

COMISIÓN DEL CODEX ALIMENTARIUS



Organización de las Naciones
Unidas para la Alimentación
y la Agricultura



Organización
Mundial de la Salud

S

Viale delle Terme di Caracalla, 00153 Roma, Italia - Tel: (+39) 06 57051 - Correo electrónico: codex@fao.org - www.codexalimentarius.org

Tema 7 del programa

CX/FH 22/52/7

Diciembre de 2021

PROGRAMA CONJUNTO FAO/OMS SOBRE NORMAS ALIMENTARIAS COMITÉ DEL CODEX SOBRE HIGIENE DE LOS ALIMENTOS

Virtual

28 de febrero-4 de marzo y 9 de marzo de 2022

ANTEPROYECTO DE DIRECTRICES PARA EL CONTROL DE LA *ESCHERICHIA COLI* PRODUCTORA DE TOXINA SHIGA (ECTS) EN LA CARNE DE BOVINO CRUDA, LAS HORTALIZAS DE HOJA VERDE FRESCAS, LA LECHE CRUDA Y LOS QUESOS A BASE DE LECHE CRUDA Y LAS SEMILLAS GERMINADAS

(Preparado por el grupo de trabajo por medios electrónicos copresidido por Chile, Estados Unidos de América, Francia y Nueva Zelandia)

Se ruega a los miembros del Codex y observadores que deseen formular observaciones sobre el presente anteproyecto en el trámite 3 que sigan las indicaciones de la carta circular [CL 2021/63-FH](http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/circular-letters/es/), disponible en la página web del Codex, apartado de las cartas circulares de 2021: <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/circular-letters/es/>

RESUMEN

1. El CCFH, en su 51.^a reunión, creó un grupo de trabajo por medios electrónicos (GTE) para continuar el trabajo tanto sobre las secciones generales como sobre los anexos de las directrices para el control de la *Escherichia Coli* productora de toxina Shiga (ECTS) en la carne de bovino cruda, la leche cruda y el queso a base de leche cruda, las hortalizas de hoja verde frescas y las semillas germinadas. En el GTE se inscribieron participantes de 34 miembros del Codex y de cinco observadores. El GTE volvió a redactar los textos a partir de las observaciones recibidas tanto del CCFH como de los resultados de las Reuniones Conjuntas de Expertos FAO/OMS sobre Evaluación de Riesgos Microbiológicos en los Alimentos (JEMRA). Puesto que la 52.^a reunión del CCFH se aplazó debido a la pandemia de COVID-19, los textos revisados también se distribuyeron mediante la carta circular CL 2021/35-FH, con objeto de recabar observaciones de los miembros y observadores, para proceder a su posterior revisión.
2. Se ha revisado la sección general para mejorar la claridad y tener en cuenta las observaciones que se recibieron en el GTE y a través de la carta circular. Quedan pendientes algunas cuestiones que figuran entre corchetes, como las definiciones de los organismos indicadores y el modo de determinar la responsabilidad de la industria y de las autoridades competentes (por ejemplo, si es necesario indicar que la responsabilidad principal recae en la industria y la importancia con que debe indicarse la responsabilidad de las autoridades competentes, es decir, "debería" en vez de "podría").
3. Se han revisado los anexos a partir de los debates en el seno del GTE, las observaciones de los miembros y observadores y el asesoramiento científico de las JEMRA, cuando se dispone de él.
4. Las referencias que figuran en las directrices tienen un carácter meramente informativo, con objeto de facilitar su elaboración, y no se conservarán una vez se hayan concluido.
5. En el Apéndice I se presenta un informe completo del trabajo del GTE, con un resumen de los debates y las decisiones.

RECOMENDACIONES

6. Se invita a la 52.^a reunión del CCFH a examinar el Anteproyecto de directrices tal como se presenta en el Apéndice II, con la sección general, el Anexo 1 (carne de bovino cruda), el Anexo 2 (hortalizas de hoja verde frescas) y el Anexo 3 (leche cruda y quesos a base de leche cruda), teniendo en cuenta el informe del GTE que figura como Apéndice I, y, en particular a:
 - i. Revisar la sección general para comprobar si está completa, resolver, en particular, las cuestiones pendientes mencionadas que figuran entre corchetes y proporcionar una recomendación sobre la conveniencia de que avance en el procedimiento de trámites; y
 - ii. Revisar los anexos con objeto de proporcionar observaciones generales que contribuyan a

finalizarlos, principalmente acerca de si el Anexo 1 sobre la carne de bovino cruda está completo, la definición de las hortalizas de naturaleza foliar, y el mantenimiento de determinados elementos (por ejemplo, la Sección 11, Venta al por menor y servicios de alimentación, y los diagramas de flujo) en el Anexo 2 sobre las hortalizas de hoja verde frescas, así como sobre la estructura y el formato de los anexos, en particular el Anexo 3 sobre la leche cruda y los quesos a base de leche cruda.

APÉNDICE I

INFORME DEL GTE

INTRODUCCIÓN

1. La 50.^a reunión del Comité del Codex sobre Higiene de los Alimentos (CCFH) acordó iniciar un nuevo trabajo sobre las Directrices para el control de la *Escherichia Coli* productora de toxina Shiga (ECTS) en la carne de bovino cruda, la leche cruda y el queso a base de leche cruda, las hortalizas de hoja verde frescas y las semillas germinadas. Se creó un grupo de trabajo por medios electrónicos (GTE), copresidido por Chile y los Estados Unidos de América, que trabajaría a través del Foro del Codex, y se envió una invitación a todos los miembros y observadores del Codex para que participaran en dicho grupo.

2. La 51.^a reunión del CCFH examinó el informe del GTE sobre las directrices para el control de la ECTS y se centró en proporcionar orientaciones sobre la terminología que debía utilizarse para cada uno de los productos regulados por estas, así como en la petición de asesoramiento científico a las JEMRA. La 51.^a reunión del CCFH acordó que se devolviese el anteproyecto al trámite 2/3 para su reelaboración, así como que se crease un GTE, presidido por Chile y copresidido por los Estados Unidos de América, Francia y Nueva Zelandia.

MANDATO

3. El GTE recibió el siguiente mandato:

- Volver a redactar la sección general, el anexo sobre la carne de bovino cruda y el anexo sobre hortalizas de hoja verde frescas, a partir de las observaciones formuladas por escrito al CCFH en su 51.^a reunión;
- Actualizar el anexo sobre la carne de bovino cruda agregando cualquier información adicional sobre las intervenciones pertinentes para el control de la ECTS en la carne de bovino cruda y presentar el anexo a las JEMRA antes de junio de 2020;
- Elaborar un anexo sobre la leche cruda y los quesos a base de leche cruda en el que se describirían las intervenciones pertinentes para el control de la ECTS en estos alimentos y presentar el anexo a las JEMRA antes de junio de 2020; y
- Revisar los anexos en función de las observaciones de las JEMRA, cuando sea necesario. El informe del GTE debía ponerse a disposición de la Secretaría del Codex al menos tres meses antes de la 52.^a reunión del CCFH para su distribución a fin de recabar observaciones en el trámite 3.

PARTICIPACIÓN Y METODOLOGÍA

4. Se envió una invitación a todos los miembros y observadores del Codex para que participaran en el GTE, en el que se inscribieron participantes de 34 miembros y 5 organizaciones observadoras del Codex. Se adjunta la lista de participantes como Apéndice III.
5. El GTE volvió a redactar la sección general, el anexo sobre la carne de bovino cruda y el anexo sobre las hortalizas de hoja verde frescas a partir de las observaciones remitidas por escrito a la 51.^a reunión del CCFH, elaboró un anexo sobre la leche cruda y los quesos a base de leche cruda en el que se describen las intervenciones pertinentes para el control de la ECTS en estos alimentos, publicó los documentos en el foro para que el GTE hiciera sus aportaciones, revisó los documentos a partir de las aportaciones del GTE y presentó a las JEMRA el anexo sobre la carne de bovino cruda y el anexo sobre la leche cruda y los quesos a base de leche cruda. La Reunión Conjunta de Expertos FAO/OMS sobre *Escherichia coli* productora de toxina Shiga (ECTS) asociada a la carne y los productos lácteos se convocó virtualmente entre el 1 y el 26 de junio de 2020, con el fin de revisar las medidas pertinentes para el control de ECTS en los momentos previos y posteriores a la recolección en animales y alimentos de origen animal. Las copresidencias de Chile y Estados Unidos de América participaron como observadores en las reuniones de las JEMRA a fin de aclarar las preguntas sobre las necesidades del CCFH. Tras recibir el resumen ejecutivo de la reunión de las JEMRA, las copresidencias revisaron de nuevo la sección general y los anexos.
6. Ante el aplazamiento por un año de la 52.^a reunión del CCFH y, con objeto de posibilitar el avance de las directrices, se facilitó el informe del GTE con el texto revisado de las mismas (a través de una carta circular) con el fin de recabar observaciones que sirvieran de orientación para la posterior revisión por parte del GTE. Se revisó el proyecto de directrices a partir de las observaciones recibidas a través del sistema de observaciones en línea del Codex. Se adjunta el proyecto revisado de las directrices como Apéndice I.

RESUMEN DEL DEBATE

7. El GTE había solicitado aportaciones sobre el formato de los anexos, en concreto, sobre la conveniencia de

armonizar los anexos y, en caso afirmativo, sobre el modo de hacerlo. Aunque algunos países expresaron su preferencia por el uso de un mismo formato para todos los anexos y varios países recomendaron que los anexos siguieran el modelo de los *Principios generales de higiene de los alimentos* (CXC 1-1969), otros consideraban que no era necesario, ya que los productos tenían diferentes procesos de producción y fabricación, por lo que el control de la ECTS debía gestionarse de forma diferente entre los distintos sectores de la cadena alimentaria.

8. Se solicitaron asimismo aportaciones sobre si, una vez realizadas las revisiones a partir de las observaciones de los países, se debería suspender el trabajo a la espera de las aportaciones de las JEMRA sobre las medidas de control específicas para la ECTS en las hortalizas de hoja verde frescas. En las observaciones se respaldó este enfoque.

Sección general

9. Se realizaron numerosos cambios en la sección general del documento para mejorar la claridad, debido a lo cual se han reenumerado los párrafos.
10. El párrafo 6 se modificó para hacer referencia a las medidas de control específicas para las cepas de ECTS en general, en lugar de para las cepas de ECTS de importancia para la salud pública, ya que las ECTS relevantes para la salud pública pueden variar entre los distintos países. Se suprimieron los párrafos que describían las medidas de control basadas en las BPA y en el peligro, ya que las medidas de control de los anexos no se presentan ni basadas en las BPA ni en el peligro. Como consecuencia, hubo que modificar el párrafo 29 para suprimir "basadas en las BPA y en el peligro" antes de "medidas de control".
11. En la sección de objetivos, se suprimió la referencia a prácticas leales en el texto que indicaba que las directrices pretendían reducir las enfermedades transmitidas por los alimentos y garantizar, al mismo tiempo, prácticas leales en el comercio internacional de alimentos, a partir de una observación sobre el hecho de que las directrices se centran en la reducción de las enfermedades transmitidas por los alimentos y no está claro el modo en el que podrían contribuir a las prácticas leales en el comercio internacional.
12. En el ámbito de aplicación, se suprimió la frase que indicaba que las directrices se aplican de forma conjunta con las normas pertinentes de la OIE (Organización Mundial de Sanidad Animal) en lo que respecta a la carne de bovino cruda, debido a que la OIE indicó que no tiene previsto elaborar ninguna norma en la materia.
13. Se modificó la definición de hortalizas de hoja verde frescas (como se explica en el debate sobre el anexo de hortalizas de hoja verde frescas). Se mantienen dos frases entre corchetes para que el Comité las examine. La definición de semillas germinadas se modificó a "Productos obtenidos de la germinación de semillas recogidas antes del desarrollo de hojas verdaderas. El producto final contiene la semilla". Esta definición permitirá distinguir las semillas germinadas de los microvegetales y puede servir como punto de partida para el grupo de trabajo que elabore el anexo sobre las semillas germinadas. Las definiciones de leche cruda y quesos a base de leche cruda de la sección general se ajustaron con respecto a las definiciones del anexo para la leche cruda y los quesos a base de leche cruda. Se han añadido dos definiciones entre corchetes de "microorganismos indicadores", ambas basadas en la información de la *Encyclopedia of Food Microbiology* (segunda edición), para que el comité las examine.
14. En la Sección 10.3.1, responsabilidad de la industria, el párrafo 43 establece que "la industria es la responsable principal" de las actividades establecidas para garantizar la inocuidad e idoneidad de los alimentos. Se añadió "validar" a las actividades. Un país recomendó suprimir "principal", ya que las actividades citadas son responsabilidad de la industria. Sin embargo, dado que la supervisión de los sistemas de inocuidad de los alimentos también es responsabilidad del gobierno, el término se ha puesto entre corchetes para que el Comité lo examine.
15. En la Sección 10.3.2, sistemas reguladores, el párrafo 45 se refiere a que la autoridad competente proporcione a la industria directrices y otras herramientas de implementación, según corresponda, para el desarrollo de los sistemas de control del proceso. Un país solicitó que se cambiara el "debería" por "podría", ya que los OEA son los principales responsables de la inocuidad de los alimentos, aunque otros países no estuvieron de acuerdo con el cambio. Estos términos se han puesto entre corchetes para que el Comité los examine.
16. En la Sección 10.4, verificación de las medidas de control, se realizaron varios cambios aclaratorios, como añadir "aerobios mesófilos" entre paréntesis después de "recuento total de bacterias", además de otras modificaciones para indicar mejor que el aumento en la frecuencia de la verificación supone un aumento en la velocidad con la que se detecta una pérdida de control. Se realizó un cambio para indicar que la frecuencia de verificación "podría" variar (en lugar de "debería") en función de diversos factores.
17. En la Sección 11.1, relativa a la vigilancia, se planteó la cuestión de si la información sobre la vigilancia se debería poner a disposición de las "partes interesadas pertinentes" o de los "operadores de empresas de alimentos" y, en el primer caso, de quiénes serían las partes interesadas. Algunas observaciones respaldaban

el uso de la expresión "partes interesadas pertinentes" para evitar limitaciones en la difusión de la información e incluir a las autoridades reguladoras, mientras que otros preferían que la información estuviese limitada a los operadores de empresas de alimentos. El párrafo 59 se modificó para mantener "partes interesadas pertinentes" e indicar que estas incluirían "cuando proceda" a los productores, la industria de elaboración, las autoridades competentes, el sector de la salud pública y los consumidores.

18. En la Sección 11.2, criterios de análisis de laboratorio para la detección de ECTS, se eliminó el término "validados" en el párrafo 64 al referirse a los métodos de reacción en cadena de la polimerasa, de acuerdo con una observación sobre el hecho de que las técnicas de PCR validadas aún no incluyen las de todas las variantes de *stx*. Se añadió una frase en el párrafo 66 sobre el envío de un aislado a un centro de referencia cuando un laboratorio no tenga los recursos y la tecnología necesarios para caracterizar un aislado.
19. En la Sección 11.4, metas de salud pública, se añadió una frase para indicar que el seguimiento y la aplicación de controles para el buen funcionamiento de los sistemas de control de ECTS deben garantizar que la cadena alimentaria sea suficientemente inocua para la salud humana. Al añadir este texto se pretende enfatizar el control de los riesgos a través del control de los datos (registros) que se generan durante el proceso.

Anexo sobre la carne de bovino cruda

20. Se incluyeron recomendaciones del borrador del informe de la reunión de las JEMRA y se eliminaron otras del documento al carecer de apoyo científico suficiente como medida de control de ECTS.
21. Se eliminó la palabra "poco cocida" del ámbito de aplicación, ya que un país miembro señaló que el anexo se refería a la carne de bovino cruda.
22. Se eliminaron los parámetros específicos para los desinfectantes químicos, ya que únicamente figuran en una publicación científica.
23. Se modificó el tercer epígrafe del párrafo 66, ya que había cierta confusión sobre el requisito de realizar pruebas previas para detectar la presencia de ECTS, así como para aclarar que no se trata de un requisito establecido por la autoridad competente, sino por un proveedor.
24. Un miembro propuso poner entre paréntesis algunas de las recomendaciones hasta que se disponga del informe de la reunión de las JEMRA, aunque no se aceptó esta recomendación debido a que la totalidad del documento se encuentra en el trámite 3.
25. Un miembro propuso que se suprimiera el párrafo en el que se dan recomendaciones sobre el sacrificio sin aturdimiento, aunque no se tuvo en consideración, ya que el párrafo pretende dar consejos para el sacrificio con fines religiosos.
26. No se tuvieron en cuenta otras recomendaciones sobre supresión o cambio de palabras sin mayor explicación o justificación.

Anexo sobre las hortalizas de hoja verde frescas

27. Se observó que la mayoría de las medidas de control del anexo sobre hortalizas de hoja verde frescas no eran específicas para las ECTS. Se proporcionó escasa información sobre las medidas de control que se han estudiado científicamente en relación con el control de ECTS. Se proporcionó a las JEMRA un proyecto de anexo con la información que se había identificado, junto con preguntas concretas relacionadas con la información del anexo, a fin de consultarlas sobre la inocuidad microbiana de las frutas y hortalizas.
28. Varios países respaldaron la revisión de este anexo para que se ajustase más al *Código de prácticas de higiene para frutas y hortalizas frescas* (CXC 53-2003). Sin embargo, debido a que el CCFH había revisado recientemente los *Principios generales de higiene de los alimentos* (CXC 1-1969) (Principios generales) y a que posiblemente fuera necesaria la revisión de los documentos que se basan en los Principios generales, entre otros CXC 53-2003, se decidió por consenso no reorganizar el anexo hasta que se obtuviera la respuesta de las JEMRA sobre si se dispone de suficiente información específica para el control de ECTS para elaborar un anexo y hasta que se tomara una decisión sobre la reestructuración de CXC 53-2003.
29. Se modificó la definición de hortalizas de hoja verde frescas para añadir al final "entre otros productos locales para consumo foliar", con el fin de abarcar otras hortalizas de hoja verde como el quintonil, el berro y el papaloquelite, que pueden estar circunscritos a determinadas regiones. En la definición no hubo consenso sobre si las hortalizas de naturaleza foliar debían describirse como aquellas "cuyas hojas están destinadas al consumo" o "que pueden consumirse" sin cocinar, por lo que se han dejado las dos frases entre corchetes para que el Comité las examine.
30. Se ha propuesto que se indique en las directrices si las BPA son suficientes para el control de la ECTS en etapas específicas de la producción y que, en caso contrario, se proporcionen ejemplos de puntos críticos de control (PCC) que correspondan. Aunque existe cierto apoyo al hecho de que se identifiquen las BPA y los

PCC, en general los países creen que ambos son adecuados en la producción primaria. Se solicitó a las JEMRA información al respecto.

31. En la Sección 3.1.1, Ubicación del lugar de producción, y basándose en algunos estudios y publicaciones científicas recientes, se ha propuesto que los productores consideren establecer, cuando sea posible, una distancia mínima entre los campos y las actividades pecuarias cercanas. Se ha consensuado solicitar la opinión de las JEMRA sobre las medidas de control relacionadas con la distancia con respecto a las actividades pecuarias cercanas.
32. En la Sección 3.1.2, actividad animal, se acordó por consenso indicar que no se deben cosechar las hortalizas de hoja verde frescas donde se encuentren heces de animales, sin añadir nada más, ya que no resulta práctico definir el tamaño del área afectada debido a que son muchos los factores que lo determinarían.
33. Se pidió asesoría a las JEMRA sobre el papel de los análisis del agua para el control de la ECTS en las hortalizas de hoja verde frescas, incluyendo los organismos indicadores y los niveles adecuados, así como si las pruebas de ECTS están justificadas y en qué circunstancias. Así, en esta ocasión no se modificó la información sobre el análisis del agua de la Sección 3.2.1, agua para la producción primaria.
34. En las secciones 4.1, control del tiempo y la temperatura, 5.4, almacenamiento en frío y 11, venta al por menor y servicios de alimentación, el comité debería considerar la posibilidad de incorporar una recomendación para el almacenamiento de hortalizas de hoja verde frescas a una temperatura inferior a 7°C. Se ha añadido entre corchetes en estas secciones. Se solicitó a las JEMRA su opinión sobre si esta sería una temperatura adecuada para prevenir la proliferación de ECTS en las hortalizas de hoja verde frescas.
35. En la Sección 5.5, especificaciones microbiológicas y de otra índole, se modificó la primera frase para que dijera: "La realización de análisis microbiológicos para detectar ECTS en las hortalizas de hoja verde frescas y en el agua para la producción primaria tiene actualmente una utilidad limitada debido a la dificultad para detectar la presencia de ECTS por la baja prevalencia y el bajo número de organismos en las hortalizas de hoja verde frescas y en el agua". Se pidió a las JEMRA que abordaran esta cuestión.
36. Existen diferentes opiniones acerca de mantener o no la Sección 11, venta al por menor y servicios de alimentación, como una sección separada o si se deberían incluir las medidas en otro lugar. Esta sección no figura en la versión revisada de los Principios generales ni en el documento CXC 53-2003, pero se ha mantenido para proceder a su examen una vez que se determine si se va a reorganizar el contenido de CXC 53-2003 para mantener la coherencia con la versión revisada de los *Principios generales de higiene de los alimentos* (CXC 1-1969).
37. Se modificó el diagrama de flujo para añadir algunos pasos como la plantación, el riego, la fertilización y la aplicación de otras sustancias químicas, así como el envasado en el campo, en el lugar de producción. Un país cuestionó la utilidad del diagrama de flujo y recomendó suprimirlo. El CCFH deberá decidir si se mantiene el diagrama de flujo.

Anexo sobre la leche cruda y los quesos a base de leche cruda

38. Se realizaron numerosas modificaciones al anexo sobre la leche cruda y los quesos a base de leche cruda para aportar mayor claridad. Por ejemplo, se cambió "transmisión fecal" por "transmisión fecal-oral". En el apartado 37, surgía confusión en relación con las cuestiones financieras (y no las competencias de laboratorio), por lo que se ha modificado el texto para evitar cualquier malentendido. A consecuencia de estos cambios, se han reenumerado los párrafos. Además, se han revisado algunas frases para mejorar la redacción. En el anexo se han realizado una serie de cambios a partir de la información que se proporciona en el resumen ejecutivo de las JEMRA.
39. Se ha aclarado la definición de leche cruda para que sea coherente con el resumen ejecutivo de las JEMRA (que indica que tanto la bacto-fugación como la microfiltración necesitan que la leche cruda se caliente a 50-60°C para reducir la viscosidad antes del tratamiento).
40. Se incorporaron al texto varias referencias científicas más, como las relacionadas con ECTS en búfalos y en animales recién comprados.
41. A partir del resumen ejecutivo de las JEMRA, se incorporó al texto información adicional sobre la circulación de ECTS en la granja, que puede depender de su tamaño y de las prácticas en ella.
42. En la consulta, los expertos de las JEMRA examinaron la cuestión de los factores que pueden influir en la excreción de ECTS (edad, dieta, estabulación, estrés, tamaño del rebaño, salud de los animales, zona geográfica y contaminación previa con cepas de ECTS) con respecto a los "grandes excretores". Las JEMRA indicaron que no resultaba práctico ni fiable identificar a un animal concreto como gran excretor debido a la naturaleza altamente intermitente de la excreción y, por tanto, no se recomienda como estrategia de

intervención frente a la ECTS. No se incorporó al texto ninguna medida de control específica sobre los "grandes excretos".

43. A partir del resumen ejecutivo de las JEMRA, se añadió una medida de control adicional en la parte relativa a "la granja lechera" y en la parte sobre la "extracción, el almacenamiento y el transporte".
44. Se añadió información en el párrafo 25 a raíz de una respuesta de las JEMRA sobre el control durante el almacenamiento y la extracción de la leche: "Se debería limpiar y desinfectar a fondo antes de cada uso todo el equipo que pueda entrar en contacto con la leche, como los tubos y conductos utilizados para transferir la leche a recipientes más grandes, las bombas, las válvulas, los recipientes y tanques de almacenamiento, etc.". Aunque no es una práctica estándar, la limpieza completa de la cisterna *in situ* cada 24 horas, con un enjuague de agua entre cada carga, acompañado o no de un tratamiento de desinfección, reduce la presencia de bacterias superficiales en la cisterna
45. Las JEMRA evaluaron el impacto del proceso de enfriamiento de la leche en la granja sobre el crecimiento de la ECTS y se utilizó esta información para completar el texto.
46. Las JEMRA proporcionaron una evaluación de la literatura científica con respecto a la reducción de ECTS mediante la acidificación, la maduración prolongada y el calentamiento de la cuajada. El texto se modificó en consecuencia: Dado que no siempre se consigue la eliminación de la ECTS, la calidad de la leche cruda utilizada en la elaboración del queso es crucial para reducir el riesgo asociado a los productos finales (párrafos 29 y 30).
47. Se pidió a las JEMRA que proporcionaran una evaluación de la realización de análisis de la leche cruda como medio de control de la presencia de ECTS en la leche cruda para beber y para la producción de quesos a base de leche cruda. Los planes de muestreo y análisis dependen en gran medida de las prácticas de consumo, la escala de producción y las regulaciones regionales locales. El texto se ha modificado a partir de la información del resumen ejecutivo de las JEMRA.
48. Se han reelaborado los dos diagramas de flujo del proceso.
49. Con respecto al formato del anexo sobre la leche cruda y los quesos a base de leche cruda, el GTE no alcanzó un consenso sobre si se debía armonizar con los *Principios generales de higiene de los alimentos* (CXC 1-1969) o el *Código de prácticas de higiene para la leche* (CXC 57-2004) o si es preferible mantener el formato actual, que aporta "conocimientos científicos" seguidos de "buenas prácticas de higiene recomendadas". Es importante destacar que las medidas de control propuestas en este anexo se justifican por los datos descritos en las secciones sobre "conocimiento científico". Por lo tanto, se considera que es necesario mantener esta información en el presente anexo para que se entienda de forma independiente. Además, el control de ECTS debe gestionarse de forma diferente en cada sector de la cadena alimentaria, por lo que la homogeneidad en los anexos es imposible, debido al propio diseño. Solicitamos la opinión del CCFH sobre este formato.

CONCLUSIONES

50. El GTE finalizó las tareas establecidas en su mandato y, concretamente, el GTE:
 - Redactó de nuevo la sección general, el anexo sobre la carne de bovino cruda y el anexo sobre hortalizas de hoja verde frescas a partir de las observaciones formuladas por escrito al CCFH en su 51.ª reunión;
 - Actualizó el anexo sobre la carne de bovino cruda con información adicional sobre las intervenciones pertinentes para el control de la ECTS en la carne de bovino cruda y presentó el anexo a las JEMRA antes de junio de 2020;
 - Elaboró un anexo sobre la leche cruda y el queso a base de leche cruda en el que se describan las intervenciones pertinentes para el control de la ECTS en estos alimentos y presentó el anexo a las JEMRA antes de junio de 2020; y
 - Revisó los anexos en función de las observaciones de las JEMRA, según fue necesario.
51. El proyecto de directrices se distribuyó al CCFH para que los países formularan sus observaciones en el trámite 3 y se revisó a partir de las observaciones recibidas.

RECOMENDACIONES

52. El GTE recomienda a la 52.ª reunión del CCFH examinar el anteproyecto de directrices tal como se presenta en el Apéndice I, con la sección general, el Anexo 1 (carne de bovino cruda), el Anexo 2 (hortalizas de hoja verde frescas) y el Anexo 3 (leche cruda y quesos a base de leche cruda) y, en particular:
 - Revisar la sección general para comprobar si está completa, resolver las cuestiones pendientes mencionadas que figuran entre corchetes y proporcionar una recomendación sobre la conveniencia

de que avance en el procedimiento de trámites.

- Revisar los anexos con objeto de proporcionar observaciones generales que contribuyan a finalizarlos, principalmente acerca de si el Anexo 1 sobre la carne de bovino cruda está completo, la definición de las hortalizas de naturaleza foliar y el mantenimiento de determinados elementos (por ejemplo, la Sección 11, venta al por menor y servicios de alimentación, y los diagramas de flujo) en el Anexo 2 sobre las hortalizas de hoja fresca, así como sobre la estructura del Anexo 3 sobre la leche cruda y los quesos a base de leche cruda.

APÉNDICE II**DIRECTRICES PARA EL CONTROL DE LA *E. COLI* PRODUCTORA DE TOXINA SHIGA (ECTS) EN LA CARNE DE BOVINO CRUDA, LAS HORTALIZAS DE HOJA VERDE FRESCAS, LA LECHE CRUDA Y LOS QUESOS A BASE DE LECHE CRUDA Y LAS SEMILLAS GERMINADAS**

(para recabar observaciones en el trámite 3 mediante la carta circular [CL 2021/63-FH](#))

1. INTRODUCCIÓN

1. Se reconoce que la *Escherichia coli* productora de toxina Shiga (ECTS) es un patógeno de transmisión alimentaria, que causa enfermedades humanas con una amplia variedad de manifestaciones gastrointestinales que van de leves a graves, de asintomáticas a diarrea hemorrágica, y que en ocasiones puede causar síndrome urémico hemolítico grave con insuficiencia renal y muerte. Las cepas de *E. coli* patógenas para el ser humano se han clasificado en varios grupos, y las ECTS se definen por su potencial para producir una o más toxinas Shiga. El patógeno ECTS más conocido es *E. coli* O157:H7, y las cepas ECTS con características genómicas y patógenas similares a *E. coli* O157:H7 pueden denominarse *E. coli* enterohemorrágica (ECEH). Aunque el grupo es bastante diverso, se considera que *E. coli* O157:H7 es el más documentado. La carga de morbilidad de la enfermedad y el costo de las medidas de control son considerables. Los brotes de ECTS se han asociado con diversos productos alimentarios, por lo que la ECTS puede llegar a tener graves consecuencias en la salud pública.

2. Los síntomas clínicos de la enfermedad en los seres humanos surgen a consecuencia del consumo de alimentos contaminados con *E. coli* que produce las toxinas proteicas Shiga-toxina tipo 1 (Stx-1) (codificada por el gen *stx1*), Shiga-toxina tipo 2 (Stx-2, codificada por el gen *stx2*) o toxinas proteicas resultantes de una combinación de estos genes. Históricamente, el término verotoxina también se ha utilizado para las toxinas Shiga de *E. coli* y se utiliza el término *E. coli* verotoxigénica (ECVT) como sinónimo de ECTS. En el presente documento, el término toxina Shiga (Stx) se utiliza para denominar la toxina proteica, *stx* para indicar el gen de la toxina y ECTS para las cepas de *E. coli* que se ha demostrado portan *stx* o producen Stx. La ECTS es patógena para el ser humano al entrar en el intestino humano y adherirse a las células epiteliales intestinales, donde se produce la Stx. La adhesión a las células del epitelio intestinal es el resultado de otros genes, incluido el principal gen de adherencia para una proteína, la intimina, codificada por el gen *eae*. Las adhesinas de las fimbrias de adherencia agregada, reguladas por el gen *aggR*, también son factores de adherencia eficaces. Estos genes, además de los genes que codifican Stx, se consideran predictores de la patogenicidad de las cepas. (Este documento proporciona un cuadro que muestra las combinaciones de los genes de virulencia y su asociación con la gravedad de la enfermedad, que puede utilizarse para la gestión de riesgos). Es posible que haya otros genes implicados que aún no se han identificado. Algunos de estos genes de virulencia se encuentran en elementos genéticos móviles (por ejemplo, plásmidos, bacteriófagos, islas de patogenicidad) y pueden transmitirse horizontalmente a microorganismos relacionados o perderse. Los síntomas y su gravedad están determinados por la variabilidad de estos genes, entre otros factores como la expresión del gen, la dosis, la susceptibilidad del huésped y la edad. La ECTS es principalmente un peligro basado en el genotipo, lo cual tiene repercusiones en la identificación y caracterización del peligro, aspectos que se desarrollarán en el presente documento de orientación.

3. Aunque históricamente las enfermedades causadas por ECTS se han relacionado con el consumo de productos de carne de bovino molida/picada o ablandada poco cocinada, se han ido reconociendo cada vez más las hortalizas de hoja verde frescas, las semillas germinadas y los lácteos (en particular la leche cruda y los quesos a base de leche cruda) como productos que implican un riesgo de enfermedad por ECTS. Las fuentes de ECTS en estos alimentos pueden variar, al igual que la capacidad del organismo para sobrevivir y multiplicarse en ellos. La asociación de categorías específicas de alimentos con las enfermedades causadas por ECTS refleja las prácticas históricas y actuales de producción, distribución y consumo de alimentos. Las variaciones en la producción, la distribución y el consumo pueden dar lugar a cambios en la exposición a la ECTS. En consecuencia, la gestión de los riesgos microbianos debería basarse en el conocimiento de las actuales fuentes locales de exposición a ECTS. En este documento de orientación se identificarán las prácticas de intervención específicas para cada producto a partir de la atribución de la fuente conocida en los diferentes alimentos, así como las prácticas para la vigilancia de la ECTS en productos alimentarios, incluida la utilidad de los microorganismos indicadores.

4. Por lo general se acepta que los animales, en particular los rumiantes, son el principal reservorio o fuente de ECTS. Los rumiantes positivos a ECTS suelen ser asintomáticos. La contaminación con contenido intestinal o heces es la fuente más probable de ECTS en la mayoría de los alimentos. Por ejemplo, los brotes de ECTS se han asociado a la carne de bovino cruda contaminada con ECTS durante el proceso de sacrificio, las hortalizas de hoja verde frescas cultivadas en el campo se han relacionado con el agua de riego contaminada con ECTS y las enfermedades causadas por ECTS en germinados son consecuencia de la contaminación durante la producción de semillas potenciada durante la germinación. En la mayoría de los

casos, la leche cruda se contamina debido a la suciedad de las ubres y los pezones, así como por deficiencias de higiene durante el ordeño.

5. El amplio grado de variación que muestra la ECTS en cuanto a sus propiedades biológicas, preferencias de huésped y supervivencia en el ambiente supone un desafío a la hora de controlar la presencia de la ECTS en la producción animal y vegetal. En la práctica, esto significa que no existe una solución única y que los diferentes sistemas de producción pueden requerir distintos enfoques para controlar los diversos serotipos de ECTS. En la mayoría de los casos, las medidas de control reducen la ECTS, pero no la eliminan.

6. Las directrices se apoyan en las disposiciones generales de higiene de los alimentos ya establecidas en el sistema del Codex y proponen posibles medidas de control específicas para las cepas de ECTS en la carne de bovino cruda, las hortalizas de hoja verde frescas, la leche cruda y los quesos a base de leche cruda y las semillas germinadas.

7. En la elaboración de estas directrices, las JEMRA han sometido a una evaluación científica los ejemplos de medidas de control que figuran en cada uno de los anexos específicos de los productos. Tales ejemplos son únicamente ilustrativos y su uso y aprobación pueden variar entre los países miembros.

8. El formato de este documento:

- Ofrece una sección inicial general con orientación sobre la ECTS aplicable a todos los productos;
- Demuestra la gama de enfoques de las medidas de control para la ECTS;
- Facilita la elaboración de planes de análisis de peligros y de puntos críticos de control (HACCP) en cada establecimiento particular y a nivel nacional;
- Ayuda a evaluar la equivalencia¹ de las medidas de control que se aplican en diferentes países para la carne de bovino cruda, las hortalizas de hoja verde frescas, la leche cruda y los quesos a base de leche cruda y las semillas germinadas.

9. Las directrices otorgan la posibilidad de aplicarse con flexibilidad a nivel nacional (así como al nivel de cada proceso de elaboración individual).

2. OBJETIVOS

10. Las presentes directrices proporcionan información a los gobiernos y a la industria sobre el control de la ECTS en la carne de bovino cruda, las hortalizas de hoja verde frescas, la leche cruda y los quesos a base de leche cruda y las semillas germinadas con el objetivo de reducir las enfermedades transmitidas por los alimentos. Además, estas directrices proporcionan un instrumento científico para la aplicación eficaz de enfoques basados en las BPH y en los peligros que tiene el fin de controlar la ECTS en la carne de bovino cruda, las hortalizas de hoja verde frescas, la leche cruda y los quesos a base de leche cruda y las semillas germinadas, de acuerdo con las decisiones nacionales de gestión de riesgos. Las medidas de control que se seleccionen pueden variar entre países y sistemas de producción.

11. Estas directrices no establecen límites cuantitativos como los descritos en los *Principios y directrices para el establecimiento y la aplicación de criterios microbiológicos relativos a los alimentos* (CXG 21-1997) para la ECTS en la carne de bovino cruda, las hortalizas de hoja verde fresca, la leche cruda y los quesos a base de leche cruda, y las semillas germinadas. En cambio, las directrices describen las medidas de control que los países pueden establecer según su situación nacional, tal como se describe en los *Principios y directrices para la aplicación de la gestión de riesgos microbiológicos (GRM)* (CXG 63-2007).

3. ÁMBITO DE APLICACIÓN Y USO DE LAS DIRECTRICES

3.1. Ámbito de aplicación

12. Las presentes directrices se aplican a la ECTS que puede contaminar la carne de bovino cruda, las hortalizas de hoja verde frescas, la leche cruda y los quesos a base de leche cruda y las semillas germinadas y causar así enfermedades transmitidas por los alimentos. El objetivo principal es proporcionar información sobre las prácticas científicamente validadas que pueden utilizarse para prevenir, reducir o eliminar la contaminación por ECTS de la carne de bovino cruda, las hortalizas de hoja verde frescas, la leche cruda y los quesos a base de leche cruda y las semillas germinadas.

3.2. Utilización

13. Las directrices proporcionan medidas de control específicas para la carne de bovino cruda, las hortalizas de hoja verde frescas, la leche cruda y los quesos a base de leche cruda y las semillas germinadas, según

¹ *Directrices para la determinación de equivalencia de las medidas sanitarias relacionadas con los sistemas de inspección y certificación de alimentos* (CXG 53-2003).

un enfoque de la cadena alimentaria desde la producción primaria hasta el consumo, identificando las posibles medidas de control en los pasos correspondientes en el flujo del proceso. Las presentes directrices complementan y deben utilizarse juntamente con los *Principios generales de higiene de los alimentos* (CXC 1-1969), el *Código de prácticas de higiene para la carne* (CXC 58-2005), el *Código de prácticas sobre buena alimentación animal* (CXC 54-2004), el *Código de prácticas de higiene para las frutas y hortalizas frescas* (CXC 53-2003), el *Código de prácticas de higiene para la leche y los productos lácteos* (CXC 57-2004) y las *Directrices para la validación de medidas de control de la inocuidad de los alimentos* (CXG 69-2008). En estas directrices se remite a estas disposiciones generales y globales según corresponda, y su contenido no se duplica.

14. Las directrices presentan una serie de medidas de control basadas en BPH. Las BPH son un prerrequisito para elegir medidas de control basadas en el peligro. Es probable que las medidas de control basadas en el peligro varíen a nivel nacional, por lo que estas directrices únicamente proporcionan ejemplos de controles basados en el peligro. Los ejemplos de medidas de control basadas en el peligro se limitan a aquellos cuya eficacia se ha demostrado científicamente en un contexto comercial. Los países deberían tener en cuenta que estas medidas de control basadas en los peligros son meramente indicativas. Los resultados cuantificables que se indican para las medidas de control son específicos para las condiciones de estudios concretos y las medidas de control se deberían validar en condiciones comerciales locales para ofrecer una estimación de la reducción de los peligros². Los gobiernos y la industria pueden utilizar las propuestas en materia de medidas de control basadas en los peligros como base para tomar decisiones sobre los puntos críticos de control (PCC) en el momento de aplicar los principios del HACCP a un proceso alimentario en particular.

15. Varias medidas de control basadas en los peligros que se presentan en estas directrices se basan en el uso de procesos de descontaminación físicos, químicos y biológicos para reducir la prevalencia o la concentración de productos positivos a ECTS, por ejemplo, canales de ganado bovino sacrificado (es decir, la carne de bovino procedente de animales de las especies *Bos indicus*, *Bos taurus* y *Bubalus bubalis*). El uso de estas medidas de control está sujeto a la aprobación de la autoridad competente, cuando proceda, y varía en función del tipo de producto que se elabore. Asimismo, estas directrices no impiden que se elija cualquier otra medida de control basada en la peligrosidad que no figure en los ejemplos aquí descritos y cuya eficacia en un entorno comercial se haya validado científicamente.

16. La posibilidad de aplicación flexible de las directrices es una característica importante. Están destinadas, principalmente, a su uso por parte de los gestores de riesgos gubernamentales y la industria en el diseño e implementación de sistemas de control de la inocuidad de los alimentos.

17. Estas directrices deberían ser útiles para evaluar si resultan adecuadas las distintas medidas de inocuidad de los alimentos, aplicadas en diferentes países, en relación con la carne de bovino cruda, las hortalizas de hoja verde frescas, la leche cruda y los quesos a base de leche cruda y las semillas germinadas.

4. DEFINICIONES

18. Para los fines del presente código, se definen los siguientes términos:

19. Hortalizas de hoja verde frescas: Hortalizas de naturaleza foliar [cuyas hojas están destinadas al consumo] [que pueden consumirse] sin cocinar, entre otras, todas las variedades de lechuga, espinaca, repollo, achicoria, endivia, col rizada, achicoria morada y hierbas frescas como el cilantro, la albahaca, la hoja de curry, las hojas de colocasia y el perejil, entre otros productos locales de consumo foliar.

20. [Microorganismos indicadores: microorganismos que se utilizan para evaluar el estado microbiológico de los sistemas de producción y control de alimentos, lo que incluye la evaluación de la calidad o la inocuidad de los productos alimentarios crudos o elaborados y la validación de la eficacia de las medidas de control microbiológico. Algunos microorganismos indicadores de higiene son el recuento total de bacterias, el recuento de coliformes o coliformes fecales, los recuentos de *E. coli* total y el recuento de enterobacteriáceas.] [Microorganismos indicadores: microorganismos utilizados como señal de calidad o estado higiénico en los alimentos, el agua o el medio ambiente, a menudo utilizados para significar la presencia potencial de patógenos, un fallo de saneamiento o un fallo del proceso. Algunos microorganismos indicadores son el recuento total de bacterias, el recuento de coliformes o coliformes fecales, los recuentos de *E. coli* total y el recuento de enterobacteriáceas.]

² FAO/OMS 2009. Caracterización de riesgos de peligros microbiológicos en los alimentos. Serie de Evaluación de Riesgos Microbiológicos 17. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/012/i1134e/i1134e00.htm> y <https://www.who.int/publications/i/item/9789241547895>

21. Carne de bovino cruda: Carne de los músculos esqueléticos de bovino, incluidos los cortes primarios³, los cortes subprimarios y los recortes de carne.
22. Leche cruda: Leche (según la definición de la *Norma general para el uso de términos lecheros* (CXS 206-1999)) destinada al consumo directo o a su uso como insumo primario de productos lácteos, que no se ha calentado a más de 40 °C ni se ha sometido a ningún tratamiento que tenga un efecto equivalente⁴. Esta definición excluye las técnicas de elaboración utilizadas para el control microbiológico (por ejemplo, el tratamiento térmico por encima de 40 °C, así como la microfiltración y la bactofugación que provocan una disminución de la microbiota equivalente al calentamiento).
23. Quesos a base de leche cruda: Quesos producidos con leche cruda⁴.
24. *E. coli productora de toxina Shiga (ECTS)*: Un grupo grande y muy diverso de cepas bacterianas de *Escherichia coli* que se ha demostrado que son portadoras de genes de toxina Shiga (stx) y producen proteína de toxina Shiga (Stx).
25. Semillas germinadas: Productos obtenidos de la germinación de semillas recogidas antes del desarrollo de hojas verdaderas. El producto final contiene la semilla.

5. PRINCIPIOS QUE SE APLICAN AL CONTROL DE LA ECTS EN LA CARNE DE BOVINO CRUDA, LAS HORTALIZAS DE HOJA VERDE FRESCAS, LA LECHE CRUDA Y LOS QUESOS A BASE DE LECHE CRUDA Y LAS SEMILLAS GERMINADAS

26. Los principios generales para las buenas prácticas de higiene en la producción de carne se describen en la Sección 4 (Principios generales de higiene de la carne) del *Código de prácticas de higiene para la carne* (CXC 58-2005). Los principios generales de las buenas prácticas de higiene para las hortalizas de hoja verde frescas y las semillas germinadas se presentan en el *Código de prácticas de higiene para las frutas y hortalizas frescas* (CXC 53 2003), en su Anexo I sobre las frutas y hortalizas frescas precortadas listas para el consumo y su Anexo III sobre las hortalizas de hoja verde frescas. En relación con los productos lácteos, véase, además, el *Código de prácticas de higiene para la leche y los productos lácteos* (CXC 57-2004). En estas directrices se han tenido especialmente en cuenta dos principios generales de la inocuidad de los alimentos:

- a) Siempre que sea posible y adecuado, se deberían incorporar los principios del análisis de riesgos para la inocuidad de los alimentos⁵ al control de ECTS en la carne de bovino cruda, las hortalizas de hoja verde frescas, la leche cruda y los quesos a base de leche cruda, y las semillas germinadas, desde la producción primaria hasta el consumo.
- b) Siempre que sea posible y práctico, las autoridades competentes deberían elaborar parámetros de gestión de riesgos⁶ para expresar objetivamente el nivel de control de la ECTS en la carne de bovino cruda, las hortalizas de hoja verde frescas, la leche cruda y los quesos a base de leche cruda y las semillas germinadas, que se requiere para alcanzar las metas de salud pública (incluyendo, cuando proceda, dedicar una atención particular a los subtipos de especial interés).

6. ENFOQUE PARA LAS MEDIDAS DE CONTROL DESDE LA PRODUCCIÓN PRIMARIA HASTA EL CONSUMO

27. Estas directrices incorporan un enfoque del flujo desde la producción primaria hasta el consumo que identifica los principales pasos de la cadena alimentaria en los que pueden aplicarse medidas de control de ECTS en la producción de cada producto. Este enfoque sistemático para identificar y evaluar las posibles medidas de control permite considerar la incorporación de controles en la cadena alimentaria y posibilita el desarrollo y la aplicación de distintas combinaciones de medidas de control. Este enfoque reviste particular importancia cuando existen diferencias entre los sistemas de producción primaria y elaboración de cada país. Los gestores de riesgos necesitan contar con la flexibilidad suficiente para elegir opciones de gestión que se adecuen a su contexto nacional.

28. Las BPH constituyen la base de la mayor parte de los sistemas de control de la inocuidad de los alimentos. Cuando sea posible y factible, las medidas de control de la inocuidad de los alimentos para la ECTS deberían

³ Un corte primario es una pieza de carne con hueso separada inicialmente de la canal de un animal durante el despiece. Los cortes primarios se dividen posteriormente en cortes subprimarios, que son secciones básicas a partir de las cuales se hacen filetes y otras subdivisiones

⁴ La cuajada de queso se puede "cocer" con fines técnicos (es decir, mediante la aplicación de calor a temperaturas inferiores a 40 °C para expulsar el agua de la cuajada). El calor somete a tensión a los microorganismos, haciéndolos más sensibles a otras medidas de control microbiológico. *Código de prácticas de higiene para la leche y los productos lácteos* (CXC 57-2004), Anexo II, Apéndice B, página. 43.

⁵ *Principios prácticos sobre el análisis de riesgos para la inocuidad de los alimentos aplicables por los gobiernos* (CXG 62-2007).

⁶ *Principios y directrices para la aplicación de la gestión de riesgos microbiológicos (GRM)* (CXG 63-2007).

incorporar actividades de análisis de peligros y medidas de control basadas en los peligros. La identificación e implementación de medidas de control basadas en el riesgo en función de una evaluación de riesgos puede realizarse mediante la aplicación de un proceso correspondiente a un marco de gestión de riesgos, como se recomienda en los *Principios y directrices para la aplicación de la gestión de riesgos microbiológicos (GRM)* (CXG 63-2007).

29. Aunque estas directrices proporcionan orientaciones genéricas sobre el desarrollo de medidas de control de la ECTS, el desarrollo de medidas de control basadas en el riesgo para su aplicación en uno o más pasos de la cadena alimentaria cabe principalmente a las autoridades competentes a nivel nacional. La industria puede seleccionar las medidas basadas en el riesgo para facilitar la aplicación efectiva de los sistemas de control de procesos y cumplir con los requisitos de las autoridades competentes.

6.1 Elaboración de medidas de control basadas en el riesgo

30. Las autoridades competentes que operan a nivel nacional deberían elaborar medidas de control basadas en el riesgo para la ECTS cuando sea posible y práctico.

31. Cuando se elaboren herramientas de modelización de riesgos, el gestor de riesgos necesita comprender sus capacidades y limitaciones⁷.

32. Al elaborar medidas de control basadas en el riesgo, las autoridades competentes pueden usar los ejemplos cuantitativos de este documento referidos al probable nivel de control de un peligro.

33. Las autoridades competentes que formulen parámetros de gestión de riesgos⁸ como medidas de control reglamentarias deberían aplicar una metodología que sea sólida y transparente desde el punto de vista científico.

7. MEDIDAS DE CONTROL DE LA PRODUCCIÓN PRIMARIA

34. Los controles en la fase de producción primaria del flujo del proceso se centran en la disminución del número de animales que portan o excretan ECTS, así como en la prevención o reducción de las plantas que se contaminan con ECTS en la explotación. Además, es posible reducir la incidencia de ECTS en la producción primaria mediante buenas prácticas agrícolas (BPA) y prácticas ganaderas relacionadas con el agua, la higiene de los trabajadores, el uso adecuado de fertilizantes y biosólidos, la manipulación adecuada durante el transporte, el control de la temperatura y la limpieza de las superficies de contacto.

8. MEDIDAS DE CONTROL DE LA ELABORACIÓN

35. Es importante realizar controles adecuados para prevenir o reducir la contaminación y la contaminación cruzada por ECTS de los productos durante su elaboración.

9. MEDIDAS DE CONTROL DEL CANAL DE DISTRIBUCIÓN

36. Las medidas de control durante la distribución son importantes para garantizar que el producto se almacene a una temperatura adecuada a fin de evitar una proliferación de la ECTS por encima del nivel detectable y para minimizar la contaminación cruzada por ECTS.

37. Las medidas de control específicas para ECTS se describen en los anexos de cada producto, cuando procede. Las medidas de control para la carne de bovino cruda figuran en el Anexo I, para las hortalizas de hoja verde frescas en el Anexo II, para la leche cruda y los quesos a base de leche cruda en el Anexo III y para las semillas germinadas en el Anexo IV.

10. IMPLEMENTACIÓN DE LAS MEDIDAS DE CONTROL

38. La implementación⁹ supone hacer efectivas la(s) medida(s) de control seleccionada(s), elaborar un plan de implementación, comunicar la decisión sobre la(s) medida(s) de control, garantizar la existencia de un marco reglamentario y de la infraestructura para su implementación, y un proceso de vigilancia y evaluación para determinar si la(s) medida(s) de control ha(n) sido debidamente implementada(s).

10.1 Antes de la validación

39. Antes de la validación de las medidas de control para la ECTS basadas en los peligros, deberían realizarse las siguientes tareas:

- Identificación de la medida o medidas específicas a validar. Esto incluiría el análisis de cualquier medida acordada por la autoridad competente, así como determinar si existe alguna medida ya

⁷ *Principios y directrices para la aplicación de la evaluación de riesgos microbiológicos* (CXG 30-1999).

⁸ *Principios y directrices para la aplicación de la gestión de riesgos microbiológicos (GRM)* (CXG 63-2007).

⁹ Véase la Sección 7 de los *Principios y directrices para la aplicación de la gestión de riesgos microbiológicos (GRM)* (CXG 63-2007).

validada de alguna manera que resulte aplicable y apropiada para un uso comercial específico, de modo que ya no sea necesaria su ulterior validación.

- Identificación de cualquier resultado o meta existente en materia de inocuidad de los alimentos, que haya establecido la autoridad competente o la industria. Para cumplir con el objetivo fijado por la autoridad competente, la industria puede marcar metas más estrictas que las establecidas por dicha autoridad competente.

10.2 Validación

40. La validación de las medidas puede ser efectuada por la industria o la autoridad competente.

41. Al efectuar la validación de una medida para la ECTS basada en el control del peligro, se necesitarán pruebas que demuestren que la medida es capaz de controlar la ECTS de tal modo que permite alcanzar una meta o resultado específico. Esto podría lograrse con una sola medida o con una combinación de medidas de control. La Sección VI de las *Directrices para la validación de medidas de control de la inocuidad de los alimentos* (CXG 69 -2008) proporciona orientaciones detalladas sobre el proceso de validación.

10.3 Aplicación de las medidas de control validadas

42. Véase la Sección 9.2 del *Código de prácticas de higiene para la carne* (CXC 58-2005), el *Código de prácticas de higiene para las frutas y hortalizas frescas* (CXC 53-2003) y el *Código de prácticas de higiene para la leche y productos lácteos* (CXC 57-2004).

10.3.1 Responsabilidad de la industria

43. La industria es la responsable [principal] de implementar, documentar, validar y supervisar los sistemas de control de procesos para garantizar la inocuidad y la idoneidad de la carne de bovino cruda, las hortalizas de hoja verde frescas, la leche cruda y los quesos a base de leche cruda y las semillas germinadas. Estos sistemas deberían incorporar medidas para el control de la ECTS adecuadas a los requisitos de los gobiernos nacionales y con las circunstancias específicas de la industria y, en su caso, las medidas deberían aplicarse de conformidad con las instrucciones del fabricante.

44. La documentación de los sistemas de control del proceso debería describir las actividades aplicadas, incluidos los procedimientos de muestreo, las metas especificadas (por ejemplo, los objetivos o criterios de desempeño) establecidas para la ECTS, las actividades de verificación de la industria y las medidas correctivas.

10.3.2 Sistemas reguladores

45. La autoridad competente [debería] [podría] proporcionar a la industria directrices y otras herramientas de implementación, según corresponda, para el desarrollo de los sistemas de control del proceso.

46. La autoridad competente puede evaluar los sistemas documentados de control de proceso para asegurarse que tienen un fundamento científico y establecer frecuencias de verificación. Deberían establecerse programas de pruebas microbiológicas para la verificación de los sistemas de HACCP si se han identificado metas específicas para el control de la ECTS.

10.4 Verificación de las medidas de control

47. Véase la Sección 9.2 del *Código de prácticas de higiene para la carne* (CXC 58-2005), el *Código de prácticas de higiene para las frutas y hortalizas frescas* (CXC 53-2003), el *Código de prácticas de higiene para la leche y productos lácteos* (CXC 57-2004) y la Sección IV de las *Directrices para la validación de medidas de control de la inocuidad de los alimentos* (CXG 69 -2008).

10.4.1 Industria

48. La industria puede utilizar la información obtenida mediante las pruebas para los microorganismos indicadores a fin de verificar las medidas de control de la ECTS, debido al elevado costo de las pruebas de detección de la ECTS. En las actividades de verificación por parte de la industria se debería comprobar que todas las medidas de control de la ECTS se han implementado según lo previsto. La verificación debería incluir la observación de las actividades de vigilancia (por ejemplo, disponiendo que un empleado del programa con responsabilidad general sobre las actividades de vigilancia observe a la persona que realiza una actividad de vigilancia mientras efectúa los procedimientos de vigilancia con una frecuencia determinada), la verificación documental mediante la revisión de los registros de vigilancia y verificación, y la toma de muestras y las pruebas de organismos indicadores y de ECTS cuando corresponda.

49. Debido a los niveles típicamente bajos y la reducida prevalencia de la ECTS en los alimentos, la vigilancia enumerativa de la ECTS no resulta práctica, y los análisis para determinar presencia o ausencia tienen una utilidad limitada para la vigilancia del desempeño del proceso (FAO/OMS 2018). La vigilancia del desempeño

del proceso se puede lograr de manera más efectiva y eficiente a través de una vigilancia cuantitativa de los microorganismos indicadores de las condiciones sanitarias y de higiene. Estos microorganismos indicadores no indican la presencia o ausencia de patógenos, sino que proporcionan una medida cuantitativa del control de la contaminación microbiana general en el producto y en su entorno de elaboración. Los microorganismos indicadores de higiene que se utilicen deberían ser aquellos que aporten más información sobre el entorno de elaboración específico. Algunos ejemplos de posibles indicadores de higiene son el recuento total de bacterias (aerobios mesófilos), el recuento de coliformes o coliformes fecales, los recuentos de *E. coli* total y el recuento de enterobacteriáceas. Un aumento en el número del microorganismo indicador elegido indica un menor control y la necesidad de adoptar medidas correctivas. Además, con el aumento de la frecuencia de las verificaciones, también aumenta la velocidad con la que se detecta una pérdida de control de la higiene en la fabricación. La verificación en múltiples puntos de la cadena de elaboración puede contribuir a la rápida identificación del proceso concreto en el que deben tomarse las medidas correctivas. La vigilancia de los microorganismos indicadores de higiene puede complementarse con pruebas periódicas para detectar la presencia de ECTS cuando proceda y conforme sea necesario para tomar decisiones basadas en el riesgo. Las pruebas para detectar ECTS pueden contribuir a reducir las tasas de contaminación y a promover la mejora continua del proceso, siempre que los resultados de las pruebas se vinculen a los requisitos de las medidas correctivas.

50. La frecuencia de verificación podría variar según los aspectos operativos del control del proceso, el desempeño histórico del establecimiento y los resultados de la actividad de verificación en sí.

51. Es importante llevar registros para facilitar la verificación y con fines de rastreabilidad.

10.4.2 Sistemas reglamentarios

52. La autoridad competente debería verificar que todas las medidas de control reglamentario implementadas por la industria cumplen con los requisitos reglamentarios, según corresponda, para el control de ECTS.

11. VIGILANCIA Y REVISIÓN

53. La vigilancia y la revisión de los sistemas de control de la inocuidad de los alimentos es un componente esencial de la aplicación de un marco de gestión de riesgos¹⁰. Contribuye a la verificación del control del proceso, así como a demostrar los avances hacia el logro de los objetivos de salud pública.

54. La información sobre el nivel de control de la ECTS en puntos adecuados de la cadena alimentaria puede servir para varios fines, como, por ejemplo, validar o verificar los resultados de las medidas de control de los alimentos, efectuar la vigilancia del cumplimiento de los objetivos reglamentarios basados en los peligros y en el riesgo, y contribuir a priorizar los esfuerzos reguladores encaminados a reducir las enfermedades transmitidas por los alimentos. Un análisis sistemático de la información de vigilancia permite que la autoridad competente y las partes interesadas pertinentes tomen decisiones en relación con la efectividad general de los sistemas de control de la inocuidad de los alimentos y realicen mejoras donde sea necesario.

11.1 Vigilancia

55. La vigilancia debería llevarse a cabo en los pasos apropiados de la cadena alimentaria empleando una prueba de diagnóstico validada y una toma de muestras aleatoria o selectiva, según corresponda.

56. Por ejemplo, los sistemas de vigilancia de la ECTS o de los microorganismos indicadores, según corresponda, en la carne de bovino cruda, las hortalizas de hoja verde frescas, la leche cruda y los quesos a base de leche cruda y las semillas germinadas pueden incluir la realización de pruebas en la explotación (por ejemplo, para las hortalizas de hoja verde frescas), en los establecimientos de sacrificio y elaboración y en las cadenas de distribución minorista, según corresponda y de acuerdo con el objetivo de la vigilancia.

57. Los programas de vigilancia reglamentarios de las autoridades competentes deberían diseñarse en consulta con las partes interesadas pertinentes, cuando proceda, teniendo en cuenta la alternativa más eficiente, en términos de costo, para la recolección y análisis de muestras. Dada la importancia de los datos de vigilancia de cara a las actividades de gestión de riesgos, los componentes de muestreo y análisis de los programas de vigilancia reglamentaria deberían normalizarse a nivel nacional y estar sujetos a controles de calidad.

58. El tipo de muestras y de datos recopilados en los sistemas de vigilancia debería adecuarse a los resultados esperados. Por lo general, la enumeración y posterior caracterización de los microorganismos proporcionan más información para la evaluación y la gestión de riesgos que los análisis para determinar su presencia o ausencia. Cuando la industria deba realizar el programa de vigilancia reglamentaria, debería

¹⁰ Véase la Sección 8 de los *Principios y directrices para la aplicación de la gestión de riesgos microbiológicos (GRM)* (CXG 63-2007).

haber flexibilidad con respecto a los procedimientos utilizados, siempre y cuando los procedimientos de la industria proporcionen un resultado equivalente a los reglamentarios.

59. La información relativa a la vigilancia debería ponerse a disposición de las partes interesadas pertinentes en su debido momento (por ejemplo, cuando proceda, para los productores, la industria de elaboración, el sector de la salud pública y los consumidores).

60. La información de vigilancia proveniente de la cadena alimentaria debería utilizarse para afirmar el logro de los objetivos de gestión de riesgo. Siempre que sea posible, esa información debería combinarse con datos de seguimiento sobre la salud humana y datos sobre la atribución de fuentes de las enfermedades transmitidas por los alimentos para validar las medidas de control basadas en el riesgo y verificar los avances hacia los objetivos de reducción de riesgos.

61. Entre las actividades que pueden aportar nueva información para tener en cuenta en la vigilancia se encuentran las siguientes:

- El seguimiento de enfermedades clínicas debidas a ECTS en seres humanos; y
- Las investigaciones epidemiológicas, incluidas las relativas a brotes y casos esporádicos.

11.2 CRITERIOS DE ANÁLISIS DE LABORATORIO PARA LA DETECCIÓN DE ECTS

62. La elección del método analítico debería reflejar no solo el tipo de muestra que se va a analizar, sino también la finalidad para la que se utilizarán los datos recabados. La finalidad del análisis de patógenos bacterianos transmitidos por los alimentos, entre otros, la ECTS, puede dividirse en las siguientes categorías:

- Aceptación de partidas o lotes de productos;
- Control del desempeño del proceso para cumplir con la reglamentación alimentaria nacional;
- Satisfacción de los requisitos de acceso a un mercado; e
- Investigaciones de salud pública.

63. Es posible predecir el riesgo de enfermedad grave a causa de infecciones por ECTS en función de los factores de virulencia (codificados por genes) presentes en una cepa de ECTS, y se deberían utilizar las pruebas de dichos factores como datos complementarios para evaluar y predecir el potencial patógeno de las cepas de ECTS procedentes de las muestras de alimentos. De acuerdo con el conocimiento científico actual, las cepas de ECTS con *stx2a* y los genes de adhesión, *eae* o *aggR*, presentan una mayor relación con la diarrea, la diarrea hemorrágica y el síndrome urémico hemolítico (SUH). Las cepas de ECTS con otros subtipos de *stx* pueden causar diarrea, pero su asociación con el SUH es menos segura y puede ser muy variable. Así pues, para gestionar adecuadamente el riesgo de ECTS en los productos que abarca este documento de orientación, deberían utilizarse pruebas que detecten factores de virulencia como estos. El riesgo de enfermedad grave también puede depender de las combinaciones de los genes de virulencia y de la expresión génica, de la dosis ingerida y de la susceptibilidad del huésped humano, por lo que también debería aplicarse un marco de gestión del riesgo cuando los países seleccionen las metodologías de laboratorio para la detección de la ECTS.

64. La determinación de la virulencia y de otros genes marcadores destacados a efectos de las pruebas puede lograrse utilizando métodos de reacción en cadena de la polimerasa o análisis de secuenciación del genoma completo. Se debería prestar especial atención a la eficacia de las técnicas de obtención de muestras para maximizar las porciones de producto con mayor probabilidad de estar contaminadas. También es importante la elección de las técnicas de cultivo de enriquecimiento que se utilizan para obtener la ECTS de los alimentos, ya que las cepas de ECTS son fisiológicamente diversas, con características de crecimiento variables. Se pueden utilizar condiciones selectivas que sean permisivas con subpoblaciones específicas de ECTS como *E. coli* O157:H7, pero se corre el riesgo de inhibir la multiplicación de otras cepas de ECTS, lo que impediría su detección.

65. Además, otras bacterias distintas de las ECTS pueden albergar los mismos genes de virulencia y es posible que la detección de los genes por sí sola no refleje plenamente el riesgo para la salud debido a la expresión diferencial o a la falta de expresión de los genes. También es muy importante tipificar los aislados de ECTS. De hecho, el aislamiento de ECTS por separación inmunomagnética (SIM) o por métodos tradicionales basados en el cultivo es fundamental para confirmar las muestras presuntamente positivas a la PCR.

66. Con el tiempo, ha aumentado el número de alimentos en los que se ha identificado el vector de transmisión de ECTS. Se realizan estudios de referencia y estudios específicos para obtener datos de prevalencia e identificar factores de riesgo a lo largo de la cadena alimentaria. Estos datos, junto con los datos de seguimiento de la salud pública, se utilizan en las evaluaciones de riesgos y en los perfiles de riesgo de las

combinaciones de ECTS y alimentos para dar prioridad a aquellos alimentos y ECTS de mayor importancia para la salud pública. Deberían elegirse métodos analíticos que sean adecuados para los fines perseguidos, que respondan a las preguntas sobre la gestión de riesgos y que se ajusten a los recursos de los gobiernos y de la industria (Informe de Expertos de la FAO/OMS sobre ECTS, 2018). En caso de que un laboratorio no disponga de los recursos y la tecnología necesarios para caracterizar el aislado, este podría enviarse a un centro de referencia.

67. La gravedad de la enfermedad por ECTS y su potencial de causar diarrea, diarrea hemorrágica y síndrome urémico hemolítico, y, por lo tanto, su grado de relevancia para la salud pública, se puede definir por la combinación de los genes de virulencia en una cepa aislada de ECTS. Estas combinaciones pueden clasificarse de la más grave (1) a la menos grave (5), y las JEMRA las recomiendan¹¹ como criterios (Cuadro 1) para desarrollar objetivos de gestión de riesgos que prioricen:

- Las ECTS de mayor importancia para la salud pública;
- El diseño de programas de vigilancia y seguimiento por parte de las autoridades competentes; y
- La dotación de recursos para las investigaciones de salud pública y la retirada de productos en respuesta a una prueba positiva.

68. El informe de las JEMRA señala que la asociación de los subtipos de Stx distintos de Stx2 con el SUH es menos concluyente y varía en función de otros factores, por ejemplo, la susceptibilidad del huésped, la carga de patógenos y el tratamiento antibiótico.

Cuadro 1. Genes de virulencia de ECTS en cepas aisladas y su potencial para causar diarrea (D), diarrea hemorrágica (DH) y síndrome urémico hemolítico (SUH) (donde 1 es el nivel de riesgo más alto). *

NIVEL	RASGO (GEN)	POTENCIAL PARA CAUSAR
1	<i>stx_{2a}</i> + <i>eae</i> o <i>aggR</i>	D/DH/SUH
2	<i>stx_{2d}</i>	D/DH/SUH**
3	<i>stx_{2c}</i> + <i>eae</i>	D/DH [^]
4	<i>stx_{1a}</i> + <i>eae</i>	D/DH [^]
5	Otros subtipos de <i>Stx</i>	D [^]

* dependiendo de la susceptibilidad del huésped o de otros factores; por ejemplo, tratamiento antibiótico.

**asociación con síndrome urémico hemolítico dependiente de la variante de *stx_{2d}* y de los antecedentes de la cepa.

[^] se ha reportado que algunos subtipos causan diarrea hemorrágica y, en raras ocasiones, síndrome urémico hemolítico.

11.3 Revisión

69. Se debería llevar a cabo una revisión periódica de los datos de vigilancia en los pasos pertinentes del proceso, a fin de contar con una base para evaluar la eficacia de las decisiones y acciones en materia de gestión de riesgos, así como para tomar decisiones futuras en cuanto a la selección de medidas de control específicas, así como para su validación y verificación.

70. La información obtenida a partir de la vigilancia de la cadena alimentaria debería combinarse con datos de seguimiento sobre la salud humana, sobre la atribución de fuentes alimentarias y sobre la recuperación y retirada del mercado, cuando se disponga de ellos, para evaluar y revisar la efectividad de las medidas de control desde la producción primaria hasta el consumo.

71. Cuando la vigilancia del peligro o del riesgo indique que no se están logrando los objetivos reglamentarios de desempeño, se deberían revisar las estrategias de gestión de riesgos o las medidas de control.

11.4 Metas de salud pública

72. Los países deberían tener en cuenta los resultados de la vigilancia y la revisión en el momento de reevaluar y actualizar las metas de salud pública relativas al control de ECTS en los alimentos y al evaluar sus avances. La vigilancia de la información relativa a la cadena alimentaria, junto con los datos sobre la atribución de fuentes alimentarias y los datos de seguimiento de la salud humana constituyen un componente

¹¹ FAO/OMS. 2018. "Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (ECTS) and food: attribution, characterization, and the monitoring the risk" [Escherichia coli productora de toxina Shiga (ECTS) y los alimentos: atribución, caracterización y vigilancia] Serie de evaluación de riesgos microbiológicos n.º 31. Roma. Disponible en: <http://www.fao.org/3/ca0032en/ca0032en.pdf>.

importante. El seguimiento y la aplicación de controles para el buen funcionamiento de los sistemas de control de ECTS deben garantizar que la cadena alimentaria sea suficientemente inocua para la salud humana.

Referencias de la sección general de la orientación sobre ECTS

FAO/OMS, 2018, Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and food: attribution, characterization, and monitoring. Microbiological Risk Assessment Series 31, Report. https://www.who.int/foodsafety/publications/mra_31/en/

EFSA BIOHAZ Panel, 2020. Scientific Opinion on the pathogenicity assessment of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and the public health risk posed by contamination of food with STEC. EFSA Journal 2020;18(1):5967, 105 pp. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.5967>.

Fremaux, B., Prigent-Combaret, C., y Vernozzy-Rozand, C. (2008). Long-term survival of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in cattle effluents and environment: an updated review. Veterinary Microbiology, 132(1-2), 1-18.

Kintz, E., Brainard, J., Hooper, L., y Hunter, P. (2017). Transmission pathways for sporadic Shiga-toxin producing *E. coli* infections: A systematic review and meta-analysis. International journal of hygiene and environmental health, 220(1), 57-67.

Scheutz, F, Teel, LD, Beutin L, Piérard, D, Buvnes, G, Karch, H. Mellmann, A, Capriolo, A, Tozzoli, R, Morabito, S, Strockbine, NA, Melton-Celsa, AR, Sanchez, M, Persson, S, O'Brien, AD (2012). Multicenter evaluation of a sequence-based protocol for subtyping Shiga toxins and standardizing Stx nomenclature. J Clin Microbiol 50: 2951-2953.

Terajima, J., Izumiya, H., Hara-Kudo, Y., y Ohnishi, M. (2017). Shiga Toxin (Verotoxin)-producing *Escherichia coli* and Foodborne Disease: A Review. Food Safety, 5(2), 35-53.

Valilis, E., Ramsey, A., Sidiq, S., y DuPont, H. L. (2018). Non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli*—a poorly appreciated enteric pathogen: systematic review. International Journal of Infectious Diseases, 76, 82-87.

ANEXO 1: CARNE DE BOVINO CRUDA

1. INTRODUCCIÓN

1. Los brotes de *Escherichia coli* productora de toxina Shiga (ECTS) transmitidos por los alimentos se han relacionado con una amplia variedad de alimentos, entre ellos, los productos cárnicos (FAO/WHO, 2018). La carne de bovino es una de las fuentes más importantes de brotes de ECTS transmitidos por los alimentos y se ha comprobado que los productos de carne de bovino cruda o poco cocinada que no está intacta (por ejemplo, la carne de bovino molida/picada o ablandada) suponen un riesgo elevado para los consumidores.

2. Las ECTS son un elemento común de la microbiota intestinal del ganado bovino y la prevalencia informada en las heces del ganado varía ampliamente en función de factores como la edad del animal, el tipo de rebaño, la estación del año, la ubicación geográfica y el tipo de producción (Hussein y Bollinger; 2005, Callaway *et al.* 2013). La excreción de ECTS por parte del ganado bovino es transitoria y episódica y casi todos los individuos son portadores y excretan ECTS en algún momento de su vida (Williams *et al.*, 2014; Williams *et al.*, 2015). Además, las ECTS están muy extendidas en el entorno de las explotaciones. Cabría esperar que el cuero de la mayoría de las reses que llegan para el sacrificio pueda estar contaminada hasta cierto punto con ECTS. Algunos estudios individuales indican que la prevalencia de ECTS O157 en el cuero del ganado bovino que se presenta para el sacrificio alcanza el 94,5 % (Arthur *et al.*, 2007), e incluso el 74,5 % para otras ECTS (Stromberg *et al.*, 2018).

3. La naturaleza esporádica de la ECTS y el movimiento y la mezcla habituales del ganado bovino antes del sacrificio, a través de medios como los recintos de engorde, los corrales y los mercados de ganado, pueden permitir la propagación de ECTS. La naturaleza transitoria de la ECTS en el ganado y la imposibilidad de realizar pruebas de ECTS a todas las reses antes del sacrificio demuestran la necesidad de que en las operaciones de sacrificio se trate a todo el ganado entrante como si pudiera tener ECTS en el cuero o pudiera estar excretando ECTS.

4. Los patógenos zoonóticos como la ECTS que porta el ganado bovino podrían propagarse a las canales durante el sacrificio. Antes del sacrificio, el tejido muscular del ganado sano es esencialmente estéril. La ECTS se puede transferir a las superficies de las canales a partir del contenido del tracto gastrointestinal o del cuero durante las operaciones de desuello, ablación de la cabeza, taponado del ano y evisceración (Gill y Gill, 2010). Por lo general, la contaminación se limita a la superficie de la canal y no se encuentra en los tejidos musculares profundos de la carne de bovino cruda intacta.

5. Tradicionalmente, la contaminación por ECTS se ha producido en la carne de bovino cruda. La finalidad de estas orientaciones es proporcionar información sobre las medidas que pueden reducir la contaminación de la carne de bovino cruda por ECTS y orientar sobre cuándo la carne de bovino cruda contaminada con ECTS debería considerarse apta para el consumo humano, a fin de reducir al mínimo los posibles conflictos y facilitar el comercio mundial.

2. ÁMBITO DE APLICACIÓN

6. La presente orientación se aplica al control de la ECTS en la carne de bovino cruda, incluidos cortes como los filetes y la carne de bovino cruda molida/picada o ablandada.

3. DEFINICIONES

A efectos de esta directriz, se aplican las siguientes definiciones:

Carne de bovino cruda: Carne de los músculos esqueléticos de ganado sacrificado, incluidos los cortes primarios¹², los cortes subprimarios y los recortes de carne.

4. ENFOQUE PARA LAS MEDIDAS DE CONTROL DESDE LA PRODUCCIÓN PRIMARIA HASTA EL CONSUMO

7. Estas directrices incorporan un diagrama de flujo que abarca desde la producción primaria hasta el consumo e identifica los pasos principales de la cadena alimentaria, y señala dónde podrían aplicarse medidas de control de la ECTS en la producción de carne de bovino cruda. Aunque las medidas de control en la fase de producción primaria pueden reducir el número de animales que portan o excretan ECTS, los controles después de la producción primaria son importantes para evitar la contaminación y la contaminación cruzada de las canales y, en particular, de la carne de bovino cruda molida/picada. El enfoque sistemático para

¹² Un corte primario es una pieza de carne con hueso separada inicialmente de la canal de un animal durante el despiece. Los cortes primarios se dividen posteriormente en cortes subprimarios, que son secciones básicas a partir de las cuales se hacen filetes y otras subdivisiones

identificar y evaluar las posibles medidas de control permite considerar la incorporación de controles en la cadena alimentaria y posibilita el desarrollo de distintas combinaciones de medidas de control. Este enfoque reviste particular importancia cuando existen diferencias entre los sistemas de producción primaria y elaboración de cada país. Los gestores de riesgos necesitan contar con la flexibilidad suficiente para elegir opciones de gestión que se adecuen a su contexto nacional.

8. La ECTS tiene una amplia gama de posibles huéspedes (Persad y LeJeune, 2014) y las células de ECTS pueden persistir en el entorno natural durante más de un año (Jiang *et al.*, 2017; Nyberg *et al.*, 2019). Estas características de la ecología de la ECTS indican que las estrategias de control basadas en la denegación del acceso de la ECTS a los huéspedes o al hábitat serán muy difíciles de aplicar de manera que se evite de forma confiable la exposición del ganado bovino a la ECTS.

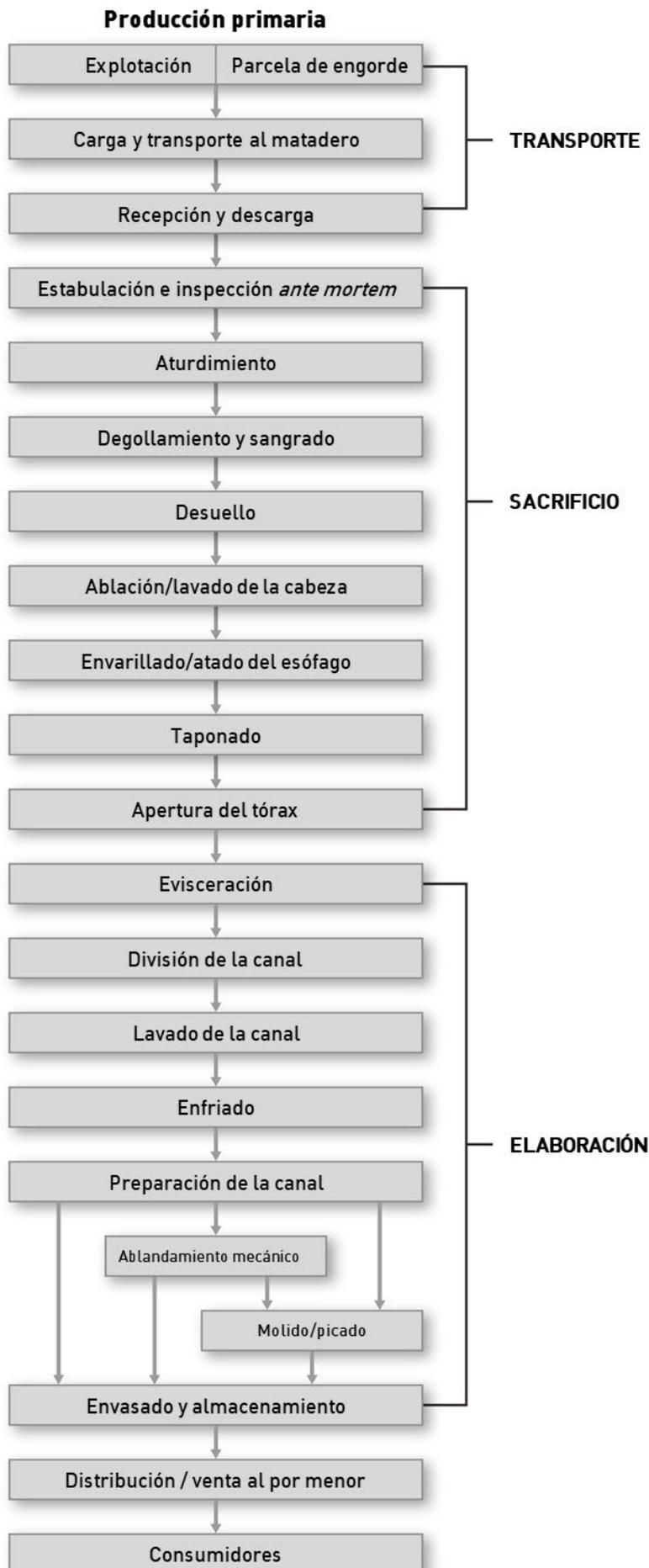
9. Las intervenciones para controlar los patógenos entéricos siempre deberían formar parte de un sistema integrado de inocuidad de los alimentos que incluya todas las etapas desde la producción primaria hasta el consumo. Las medidas para reducir la excreción o la contaminación del cuero por ECTS antes del sacrificio pueden reducir la exposición ambiental a la ECTS y mejorar la inocuidad de la carne de bovino cruda, pero no pueden prevenir la contaminación por ECTS ni compensar las prácticas de higiene deficientes durante el sacrificio, la elaboración y la distribución. Por el contrario, está demostrado que la adopción de las mejores prácticas de higiene durante el sacrificio y la elaboración puede reducir al mínimo la contaminación por ECTS (Brichta-Harhay *et al.*, 2008; Pollari *et al.*, 2017). Por consiguiente, debería promoverse la adopción de las mejores prácticas para la gestión previa a la matanza del ganado bovino como forma de contribuir a la higiene del sacrificio y la elaboración.

10. Del mismo modo, las operaciones de descontaminación de las canales o de los cortes de carne de bovino cruda tendrán una eficacia limitada si unas malas prácticas de higiene en las fases siguientes de elaboración y distribución permiten la recontaminación o si la carga de contaminación inicial es elevada. La descontaminación únicamente reduce la ECTS hasta cierto punto, que puede ser muy variable en función del tipo de tratamiento, la duración, la aplicación, la temperatura, etc.

4.1 DIAGRAMA DE FLUJO GENÉRICO PARA LA APLICACIÓN DE MEDIDAS DE CONTROL

Diagrama de flujo del proceso 1: desde la producción primaria hasta el consumo de la carne de bovino

11. Estas etapas del proceso son genéricas y es posible que no se produzcan todas ellas, el orden de las mismas puede variar según convenga. Cabe señalar que es posible que no todas las etapas se lleven a cabo en el mismo establecimiento. El molido/picado, por ejemplo, pueden llevarse a cabo en lugares distintos de aquel donde se produce el sacrificio o la preparación. Este diagrama de flujo tiene únicamente carácter ilustrativo. Para la aplicación de medidas de control en países o establecimientos específicos, debería trazarse un diagrama de flujo amplio y completo para cada situación.



4.2 PRODUCCIÓN PRIMARIA

12. En la presente sección se describen las medidas de control destinadas a reducir la ECTS portada por el ganado bovino antes del sacrificio que podrían hacer que disminuya la prevalencia de la ECTS.

4.2.1. Medidas de control específicas en la producción primaria

13. La prevalencia de la excreción de ECTS en un rebaño y el estado de excreción individual de ECTS en los animales suele ser impredecible, aunque se han identificado algunos factores que pueden influir en la excreción de ECTS. Entre las intervenciones propuestas para reducir la prevalencia de la excreción de ECTS o el número de ECTS excretados por el ganado figuran la vacunación de los animales, los aditivos dietéticos y la manipulación de los piensos, y las prácticas de producción primaria.

14. Muchos de estos métodos de control propuestos previos al sacrificio no tienen una eficacia demostrada para reducir en forma fiable la prevalencia o el nivel de excreción de ECTS en el ganado bovino en un contexto comercial. La investigación sobre el control de ECTS previo al sacrificio en bovinos se ha centrado en los serotipos O157:H7 y O157:NM, por lo que a menudo se dispone de datos limitados acerca del efecto sobre otros serotipos de ECTS. Además, algunos de los métodos propuestos se centran en subpoblaciones específicas de ECTS (por ejemplo, vacunas, bacteriófagos).

4.2.1.1 Ingredientes de la dieta

15. Se ha investigado una amplia variedad de dietas para el ganado bovino a fin de determinar sus efectos en la prevalencia o la excreción del serotipo O157:H7 de ECTS, entre las que figuran el heno, la cebada, los granos de destilería y cervecera, la artemisa, el mijo, la alfalfa (Callaway *et al.*, 2009). Se ha demostrado que las poblaciones, tanto del serotipo O157:H7 de ECTS como de *E. coli* genérica responden a los cambios en la dieta, pero la reproducción de los resultados que suponen la reducción del serotipo O157:H7 de ECTS ha sido deficiente y no se ha identificado ninguna composición dietética que reduzca de forma fiable el serotipo O157:H7 de ECTS. Algunas de las dietas que se han propuesto aumentan la excreción del serotipo O157:H7 de ECTS (Thomas y Elliott, 2013).

16. En general, las investigaciones avalan el hecho de que el ganado alimentado con dietas a base de cereales parece expulsar niveles más elevados de *E. coli* genérica en las heces que el ganado alimentado con dietas forrajeras (Callaway *et al.*, 2003), pero el efecto de estas últimas en la excreción fecal del serotipo O157:H7 de ECTS no es concluyente.

Uso de alimentación directa con microbianos

17. El uso de probióticos o de microbios de alimentación directa supone la alimentación de los animales con microorganismos viables que son antagónicos a los patógenos, ya sea porque modifican los factores ambientales en el intestino o porque producen compuestos antimicrobianos. Está demostrado que los tratamientos microbianos específicos de alimentación directa, como *Lactobacillus acidophilus* (NP51) y *Propionibacterium freudenreichii* (NP24), pueden reducir la excreción del serotipo O157:H7 de ECTS en el ganado bovino (Wisener *et al.*, 2015, Venegas-Vargas *et al.* 2016). Se debería evaluar el hecho de añadir microorganismos viables a los piensos, en el sentido de si estos microorganismos suponen un riesgo de aparición de resistencia a los antimicrobianos en los patógenos del intestino.

Uso de otros aditivos para piensos

18. El alga marina *Ascophyllum nodosum* (Tasco-14) se comercializa como suplemento para el pienso del ganado bovino. Se ha señalado que, cuando se agrega al pienso de maíz, reduce la prevalencia de ECTS O157:H7 en las heces y en el cuero (Braden *et al.*, 2004).

4.2.1.2 Vacunación

19. Se han diseñado y probado varias vacunas para prevenir la colonización o reducir la excreción fecal de ECTS O157:H7. Se ha demostrado que algunas vacunas reducen la excreción fecal de ECTS O157:H7, pero su eficacia depende del tipo de vacuna y del número de dosis administradas. Únicamente se ha probado un escaso número de vacunas en condiciones de producción y se desconoce la duración de la inmunidad tras la vacunación porque el periodo de evaluación en los estudios en parcelas de engorde ha sido relativamente corto. No se ha adoptado comercialmente el uso de la vacunación en el ganado bovino debido a la falta de evidencia que respalde que la vacunación reduce la ECTS en la carne de bovino y a la falta de incentivos para que las explotaciones cubran el coste adicional que suponen las vacunas y su administración (JEMRA, 2020).

4.2.1.3 Buenas prácticas de gestión en la producción primaria

20. Se recomiendan las siguientes buenas prácticas de gestión de los animales para reducir al mínimo la ECTS excretada y su presencia en el cuero de los animales que se presentan para el sacrificio. Es

especialmente importante la prevención de la formación de acumulaciones fecales en el cuero de los animales, ya que esto puede interferir con un desuello y una evisceración higiénicos.

- Siempre que sea posible, se deberían minimizar las situaciones estresantes, ya que el aumento del estrés aumenta la excreción de patógenos (por ejemplo, la cría deficiente de animales, el manejo brusco, el estrés dietético y la privación de alimentos (Stein y Katz, 2017; Venegas-Vargas *et al.*, 2016)).
- Reducir al mínimo la exposición entre diferentes rebaños para evitar o reducir la transmisión horizontal de la ECTS entre rebaños (Callaway *et al.*, 2009).
- Maximizar el espacio en el que viven los animales para reducir la transmisión directa entre ellos (por ejemplo, mantener un espacio amplio para que los animales se muevan a fin de reducir la defecación directa sobre las reses).
- Mantener unas condiciones de vida limpias (por ejemplo, limpiar las zonas de estabulación, eliminar la contaminación gruesa en la medida de lo posible y mantener los lechos limpios y secos) para evitar la transmisión desde el entorno en el que viven las reses (por ejemplo, animales que reposan sobre materiales contaminados con ECTS).
- Reducir el potencial de transmisión de ECTS a través del consumo de alimentos y agua contaminados de la siguiente manera:
 - Diseñar los sistemas de suministro de alimentos y agua (tanques, abrevaderos, cubos, etc.) de manera que se reduzca la posibilidad de que los animales entren y defequen.
 - Asegurarse de que el agua sea de una calidad microbiológica que reduzca al mínimo la contaminación del animal y, en caso de duda, tratar el agua.
 - Limpiar con frecuencia los abrevaderos para reducir la replicación o supervivencia de estos patógenos transmitidos por los alimentos (Lejeune *et al.*, 2001).
 - Utilizar materiales en los abrevaderos que faciliten el proceso de limpieza; los abrevaderos metálicos tenían recuentos menores de *E. coli* O157:H7 en comparación con aquellos fabricados de hormigón o plástico (Lejeune, 2001).

4.3. Transporte

4.3.1. Medidas de control específicas en el transporte al matadero

21. El transporte puede ser un factor muy importante que contribuye al aumento de la presencia de patógenos en los animales y una fuente de contaminación del cuero. Entre los factores que contribuyen a ello figuran la mezcla de animales de diferente origen, el aumento del estrés, el aumento de exposición a ECTS en el transcurso de un transporte de duración prolongada y la limpieza de los vehículos de transporte (Norrung *et al.*, 2008; Dewell *et al.* 2008, Stein y Katz, 2017).

22. La contaminación cruzada entre animales de diferentes explotaciones durante el transporte al matadero y en la estabulación (corrales) puede ser una fuente importante de contaminación del cuero. Por lo tanto, deberían establecerse controles adecuados para reducir al mínimo la contaminación del cuero. Entre los controles se incluye lo siguiente:

- Mejorar el diseño de los camiones de modo que permita la separación de los lotes de animales.
- Separar los lotes de animales de diferentes explotaciones, utilizar corrales de tamaño adecuado para el número de animales, evitar el hacinamiento y el estrés de los animales.
- Limpiar adecuadamente los corrales entre los diferentes lotes de ganado.
- Implementar controles visuales de los animales sucios, los vehículos de transporte y los corrales para detectar la contaminación fecal visible.

23. Las prácticas de transporte deberían reducir al mínimo cualquier circunstancia que pudiera afectar a la contaminación de la carne. Entre las medidas de control aplicadas antes del traslado se incluyen las siguientes:

- Reunir y manipular a los animales de tal manera que no se vean sometidos a un estrés excesivo.
- Transportar en el mismo camión a animales del mismo rebaño cuando sea posible, para evitar el estrés social.

- Reducir al mínimo la distancia que se debe recorrer en el transporte del ganado para el sacrificio. Un estudio indicó que transportar el ganado a más de 100 millas duplicaba el riesgo de encontrar cuero positivo en el sacrificio en comparación con el ganado que recorría una distancia menor (Dewell *et al.*, 2008).
- Asegurarse de que los animales estén lo más limpios posible para reducir la oportunidad de que las canales o cueros se contaminen con patógenos durante los procesos de sacrificio y faenado. La probabilidad de que se contamine la carne con ECTS aumenta cuando los niveles de contaminación fecal en el cuero son elevados.
- Cargar los animales en vehículos limpios, evitar la transferencia de heces del nivel superior al inferior (en remolques de varios niveles) en la medida de lo posible, y evitar el hacinamiento en el vehículo.

4.3.2. Medidas de control específicas en la recepción y la descarga

24. Mantener el rebaño junto durante el proceso de carga y transporte, hasta su descarga y ubicación en los corrales. Para reducir al mínimo la excreción de ECTS, se deberían minimizar los niveles de estrés utilizando buenas prácticas de manejo de animales; reducir al mínimo o eliminar el uso de picanas eléctricas y evitar el hacinamiento.

25. La descarga debería llevarse a cabo de manera que se reduzca al mínimo el estrés causado por la operación, el cual podría incrementar la excreción de ECTS, mediante una capacitación adecuada de los operarios sobre los procedimientos que pueden minimizar el estrés.

4.4 SACRIFICIO

26. Las intervenciones en el matadero incluyen intervenciones físicas, químicas o biológicas que se pueden aplicar solas o combinadas entre sí; es probable que reduzcan el número de microorganismos de ECTS pero no debería considerarse que eliminen la ECTS en todos los animales. Es necesario aplicar prácticas de higiene estrictas y buenas prácticas de fabricación en el momento del sacrificio para evitar la transferencia de ECTS del cuero y del tracto digestivo a la canal. Debería prestarse especial atención a garantizar las mejores prácticas durante las operaciones de desuello, extracción de la cabeza, taponado y evisceración, ya que estas son las fuentes iniciales de transferencia de la microbiota a la superficie de la carne (Gill y Gill, 2010).

27. Las medidas de control específicas durante esta etapa constituyen técnicas de intervención destinadas a evitar la transferencia de contaminación a las canales, así como la contaminación cruzada a otras canales. Se deben validar las intervenciones seleccionadas en función de su eficacia.

28. Las intervenciones destinadas a eliminar la ECTS de la superficie de las canales de bovino deben tener en cuenta que en algunas cepas de ECTS se ha observado tolerancia al calor, la sal y el ácido. Determinar la eficacia de las intervenciones para reducir los patógenos microbianos es complejo, sobre todo porque pueden aplicarse múltiples intervenciones simultáneamente o en secuencia. El impacto de las intervenciones debe cuantificarse mediante la realización de ensayos experimentales con organismos sustitutos que tengan una resistencia a cada uno de los tratamientos similar o mayor que la de la ECTS.

29. Las medidas específicas de control deberían ser inocuas y viables a lo largo del proceso de producción y no deberían modificar las propiedades organolépticas de la carne de bovino.

30. Las intervenciones descritas para los próximos pasos pueden reducir el nivel de microbiota, incluida la ECTS, en las canales y la superficie de la carne de bovino cruda. Muchas operaciones se pueden realizar manualmente o con equipos automatizados. La automatización ofrece la ventaja de una mayor uniformidad en la aplicación, pero requiere un ajuste adecuado (Signorini *et al.*, 2018).

4.4.1. Medidas de control específicas en la estabulación y la inspección *ante mortem*

31. En esta etapa se debería evaluar el estado de higiene de los animales, que deberían estar lo más limpios posible para minimizar la carga inicial de microorganismos en el cuero, entre ellos, potencialmente también ECTS. Se deberían separar los animales sucios o mojados para evitar la contaminación cruzada.

32. La zona de estabulación debería limpiarse tanto como sea posible para cada lote de animales, eliminando la contaminación gruesa y los residuos mediante la aplicación de agua clorada a presión en el suelo. La limpieza y la desinfección se deberían aplicar con arreglo a las buenas prácticas de higiene y a las instrucciones del fabricante. La zona de estabulación debería estar diseñada para tener un buen drenaje a fin de facilitar el secado.

33. Se han investigado prácticas como el lavado de los animales (por ejemplo, mediante rociado, vaporización, enjuague o lavado), específicamente del cuero del animal, con diferentes sustancias (por ejemplo, agua del grifo, bacteriófagos) para reducir la contaminación (Byrne *et al.*, 2000; Arthur *et al.*, 2007; Arthur *et al.*, 2011;

LeJeune y Wetzel 2007). Sin embargo, en general, las pruebas de que el lavado reduce la transferencia de ECTS del cuero a la canal son escasas.

34. Cuando sea viable, en la estabulación se debería mantener al ganado en rebaños cerrados para reducir el estrés social y prevenir la contaminación cruzada entre rebaños.

4.4.2. Medidas de control específicas en el aturdimiento, el degollamiento y el sangrado

35. En el compartimento de aturdimiento, o después de su paso por el mismo, se puede tratar a los animales con agua a una presión adecuada, con objeto de higienizar el recto para la posible eliminación de heces y de ECTS excretada debido al estrés que ha sufrido el animal al ser conducido al sacrificio. El uso de cualquier agua o enjuague debería estar concebido para reducir la contaminación por ECTS y no debería estresar al animal o inhibir la eficacia del aturdimiento, el degollamiento o el sangrado.

36. El compartimento de aturdimiento debería mantenerse lo más limpio posible para evitar la contaminación del cuero del animal en la caída después del proceso de aturdimiento.

37. El método de aturdimiento empleado (perno cautivo, pistola, otro) puede tener efectos diferentes en cuanto a la transferencia de ECTS al cráneo.

38. Cuando no se realiza el aturdimiento antes del sacrificio, se debería prestar especial atención para evitar un retraso en el pinzado del esófago para reducir al mínimo la contaminación por ECTS de la carne del cuello, cuando existe ECTS en la ingesta.

39. Se debería realizar el degollamiento y el sangrado de manera que se reduzca la transferencia de contaminación del cuero a la canal. La preparación de los lugares de penetración o corte (por ejemplo, mediante un tratamiento de vapor/vacío) puede reducir la probabilidad de contaminación.

4.4.3. Medidas de control específicas en el desuello

40. El desuello es el proceso sistemático para separar el cuero de la canal y es, tal vez, la operación más crítica para determinar el nivel de ECTS que se transfiere a la canal. Para evitar la transferencia de contaminación del cuero a la canal recién descubierta, se debería capacitar eficazmente a los operarios que trabajen en esta fase y realicen esta operación.

41. Cuando sea viable, los mataderos pueden considerar la posibilidad de aplicar un procedimiento de descontaminación de la canal previo a la separación del cuero para reducir la contaminación visible del cuero. Antes del desuello, es posible reducir la contaminación microbiana de la canal mediante la aplicación de un proceso que descontamine el cuero (como el lavado, la eliminación del pelo, la aplicación de mezclas de bacteriófagos o la aplicación de vapor y vacío en los lugares de incisión del cuero). Sin embargo, existen en general escasas pruebas sobre su papel en la reducción de la transferencia de ECTS del cuero a la canal. El exceso de líquido del procedimiento de descontaminación se debería retirar del cuero mediante aspiración, a fin de evitar la contaminación de la canal con un líquido que podría deslizarse fácilmente por ella cuando se abra el cuero (Bosilevac *et al.*, 2005, Wang *et al.*, 2013).

42. Se debería realizar el enjuague del recto y la desinfección del cuero perianal antes del desuello para reducir o eliminar la contaminación. Con frecuencia, para tal fin, se lava el cuero aún sobre la canal utilizando una solución específica (Yang *et al.*, 2015). Entre las técnicas para evitar la transferencia de la contaminación del cuero a la canal se pueden incluir las siguientes:

- Utilizar cuchillos limpios y desinfectados para cortar el cuero.
- Limpiar y desinfectar el cuchillo (o la herramienta) cada vez que se penetra el cuero, o utilizar diferentes cuchillos, uno para cortar; y otro para retirarlo.
- Utilizar un método de despiece sistemático, trabajar hacia afuera a partir de una sola apertura del cuero.
- Utilizar una mano para sujetar, tirar y controlar el cuero mientras se separa/corta el cuero de la canal con la otra mano.
- Lavarse las manos y los delantales con la frecuencia necesaria para evitar la contaminación cruzada de las canales.

43. La operación de desuello se debería realizar de tal manera que se evite el contacto del cuero con la parte de la canal que ya está desollada (es decir, desollar toda la región perianal y doblar el cuero, de modo que quede por encima de la cola). Utilizar papel para proteger zonas concretas de la canal como el tórax y el embolsado de la cola también pueden ser prácticas útiles para la reducción de la contaminación por ECTS debido al contacto con el cuero durante el desuello.

44. Se deberían tomar medidas para evitar que la cola se agite o salpique cuando se utilicen máquinas desolladoras.

4.4.4. Medidas de control específicas en el envarillado

45. La operación de envarillado consiste en el uso de una barra de metal para separar el esófago de la tráquea y los tejidos circundantes. La carne del esófago se puede extraer del tracto gastrointestinal para utilizarla en la producción de carne de bovino cruda picada/molida. Las operaciones de envarillado se deberían llevar a cabo de tal manera que se evite la contaminación del esófago y el interior de la canal por su parte exterior. Si durante la operación de envarillado se perfora el tracto gastrointestinal, se puede provocar la contaminación del interior y el exterior de la canal por la ingesta.

46. Entre las técnicas para evitar la contaminación cruzada de la canal procedente del esófago durante la operación de envarillado, se pueden incluir las siguientes:

- Colgar la canal verticalmente, para cortar el músculo y el tejido y descubrir el esófago.
- Se debería cerrar el conducto (es decir, atar) de forma higiénica para evitar el derrame del rumen; se pueden utilizar ataduras o pinzas para evitar el movimiento del material de la vía digestiva.
- Las cabezas se pueden “soltar” cortando el esófago por debajo de la atadura o la pinza.
- Cambiar o desinfectar la barra de metal antes y después de separar el esófago de cada canal.
- Limpiar el esófago para reducir al mínimo la contaminación cruzada.
- Si se perfora el tracto gastrointestinal y, en consecuencia, se produce una contaminación importante, se debería marcar la canal y se deberían aplicar procedimientos adicionales a fin de evitar la contaminación cruzada de otras canales.

47. Cuando se aplican de forma adecuada, estas técnicas reducen la contaminación por microorganismos intestinales en general, entre los que pueden encontrarse patógenos. Sin embargo, no existen pruebas suficientes sobre su efecto específico en relación con la ECTS.

4.4.5. Medidas de control específicas en el taponado del ano

48. La oclusión del recto se debería llevar a cabo de forma higiénica para evitar la contaminación de la canal y de las herramientas con el contenido gastrointestinal o con el cuero, si no se ha realizado ya el desuello.

49. Entre las técnicas para evitar la transferencia de contaminación del ano a la canal, se pueden incluir las siguientes:

- Enjuagar o lavar la zona del ano antes del corte.
- Rellenar el ano con materiales físicos (por ejemplo, toallas de papel) para empujar la materia fecal dentro del ano y reducir el movimiento fecal fuera del mismo.
- Embolsar el ano envolviéndolo en una bolsa para contener cualquier fuga accidental que pudiera producirse durante el proceso de evisceración.

4.4.6. Medidas de control específicas en la apertura del tórax

50. La apertura del tórax se debería llevar a cabo de forma higiénica para evitar la contaminación de la canal y de las herramientas, especialmente si no se ha realizado el desuello.

51. Entre las técnicas para evitar la entrada de contaminación en la canal durante la apertura del tórax se pueden incluir las siguientes:

- Limpiar y desinfectar la sierra y el cuchillo empleados para abrir el tórax antes y después de cada canal y asegurarse de no perforar el tracto gastrointestinal.
- Si se perfora el tracto gastrointestinal y, en consecuencia, se produce una contaminación importante, se debería marcar la canal y se deberían aplicar procedimientos adicionales a fin de evitar la contaminación cruzada de otras canales.

4.5 ELABORACIÓN

52. La ECTS de la canal puede transferirse a los cortes de carne a medida que el animal atraviesa el proceso de elaboración y puede transferirse asimismo de un corte de carne a otro a través del equipo de elaboración de la carne (ICMSF, 2005).

4.5.1. Medidas de control específicas en la evisceración

53. La evisceración comprende los procedimientos para retirar el tubo digestivo y los órganos de la canal. La evisceración se debería realizar evitando la contaminación con el contenido gastrointestinal debido a un corte del tracto gastrointestinal.

54. Entre las técnicas que permiten evitar que las vísceras contaminen la canal cuando se retiran se pueden incluir las siguientes:

- Eliminar los contaminantes visibles de la zona donde se hará la incisión (por ejemplo, mediante el recortado, usando cuchillas de aire o lavando con vapor caliente) antes de hacerla. Esto se debería realizar oportunamente y de acuerdo con los procedimientos de reacondicionamiento comúnmente aceptados.
- En el caso de que el animal se encuentre en estado de gestación, extraer el útero de manera que se evite la contaminación de la canal y las vísceras.
- Se debería evitar cortar las amígdalas.
- Entre las técnicas que permiten evitar que el personal contamine la canal durante la evisceración se pueden incluir las siguientes:
 - Utilizar los cuchillos de forma adecuada para evitar dañar (es decir, perforar) el rumen y los intestinos.
 - El uso por parte del personal de pediluvios o de calzado diferenciado al salir de las líneas de evisceración para evitar contaminar otras partes de la operación.
 - Emplear a personas capacitadas y experimentadas para realizar la evisceración, algo que resulta de particular importancia cuando la velocidad de la línea es más alta.
 - Si se perfora el tracto gastrointestinal y, en consecuencia, se produce una contaminación importante, no se debería realizar ninguna otra operación en la canal hasta que se haya retirado de la línea de sacrificio.

4.5.2. Medidas de control específicas en la división de la canal

55. La división de la canal es la fase del proceso en la que las canales se dividen verticalmente en dos mitades.

56. Entre las técnicas para evitar que se contamine la canal al dividirla por la mitad están las siguientes:

- Eliminar de forma higiénica los defectos que puedan contaminar la sierra o la cuchilla (por ejemplo, heces, leche, ingesta, abscesos, etc.) antes de dividir la canal.
- Limpiar las sierras y cuchillos para eliminar los materiales orgánicos y desinfectar antes y después de cada canal.
- Dejar distancia suficiente entre las canales (es decir, evitar el contacto entre las canales) así como entre éstas y las paredes y el equipo.

57. Se puede realizar una eliminación selectiva de la contaminación visible de las canales mediante el recorte, pero la desventaja de los métodos manuales es la posible contaminación cruzada procedente de los cuchillos sucios (si no se utiliza un protocolo de desinfección con un cambio de cuchillos entre los cortes), los delantales, los guantes de malla y los residuos. Además, aunque las prácticas pueden ser eficaces para eliminar los defectos visibles, la eficacia de estas prácticas para reducir la contaminación por patógenos, entre ellos la ECTS, es limitada (Gill y Landers, 2003; Gill y Baker *et al.*, 1998).

58. El recorte de las canales debería realizarse en una zona designada para tal fin y debería dar como resultado canales recortadas que estén libres de heridas de punción, coágulos de sangre, tejido con hematomas, defectos patológicos, contaminantes visibles y defectos de faenado. Tras el recorte, se deberán lavar todas las canales para eliminar la sangre y el polvo de hueso.

4.5.3. Medidas de control específicas en el lavado o tratamiento de la canal

- *Lavado de la canal con agentes antimicrobianos*

59. El lavado de la canal puede eliminar la suciedad visible y reducir el recuento total de bacterias en las canales de bovino hasta en 1 unidad logarítmica (Gill y Landers, 2003). El lavado de la canal con agentes antimicrobianos, como ácidos orgánicos (por ejemplo, ácido cítrico, ácido láctico, ácido acético), agentes oxidantes (por ejemplo, cloro, peróxidos, ozono) u otros agentes antimicrobianos puede ser efectivo para reducir la ECTS (Gill y Gill, 2010). Estos tratamientos antimicrobianos pueden aplicarse con agua caliente para causar un efecto térmico combinado. Entre los factores que determinan la eficacia de dichos tratamientos

cabe mencionar la concentración del agente, la uniformidad de la cobertura de la superficie, la temperatura de la solución y el período de contacto. Cada una de las cepas de ECTS puede variar en cuanto a su sensibilidad a estos tratamientos (Berry y Cutter, 2000; Gill *et al.*, 2019). Los ácidos orgánicos por sí solos pueden reducir, pero no eliminar completamente, la ECTS O157:H7 (Hussein y Sakuma, 2005).

- *Pasteurización de la superficie de la canal*

60. Por lo general, esta forma de tratamiento se aplica a los costados de la canal al final del faenado. Puede aplicarse agua a >85 °C en forma de pulverización, lámina o vapor (Gill y Bryant, 2000; Retzlaff *et al.*, 2005). El tratamiento es más efectivo cuando se aplica sobre costados limpios y secos de la canal en forma de grandes gotas o láminas de agua; cuando se aplica en tales condiciones, el tratamiento puede lograr una reducción de >2 log en el total de *E. coli* en las operaciones de sacrificio comerciales (Gill y Jones, 2006). Se desconoce su impacto específico en la ECTS.

- *Vapor y vacío*

61. Las canales se rocían con vapor y luego se realiza una aspiración, que cumple la doble función de eliminar o inactivar la contaminación de la superficie. El dispositivo manual cuenta con un tubo de vacío con una boquilla de pulverización de agua caliente que suministra agua a aproximadamente 82-88 °C sobre la superficie de la canal. El proceso es eficaz para eliminar la contaminación visible en las canales (Huffman, 2002; Dorsa *et al.*, 1996, 1997; Koohmaraie, 2005; Kochevar *et al.*, 1997). Se desconoce su impacto específico en la ECTS.

4.5.4. Medidas de control específicas en el enfriamiento

62. El enfriado rápido minimiza la posibilidad de replicación de las bacterias. La ECTS solo puede replicarse a temperaturas de 7 °C y superiores. El potencial de replicación bacteriana también depende de la actividad acuosa en la superficie de la canal y, si esta es lo suficientemente baja (menor a_w 0,95), se producirá una disminución del número de bacterias. Así, el control de la humedad en el proceso de enfriamiento puede influir en los niveles de ECTS en la canal. Alternativamente, el enfriado por aspersion con agentes antimicrobianos puede reducir la supervivencia de la ECTS (Liu Y *et al.*, 2016, Kocharunchitt *et al.*, 2020).

4.5.5. Medidas de control específicas en el ablandamiento mecánico, el molido o el picado

63. Algunos estudios han constatado que los procesos como el marinado, en combinación con el cortado con cuchillo, las enzimas proteolíticas o la inyección de salmuera al vacío y el ablandamiento mecánico, en los que se penetra la superficie muscular con cuchillas o agujas, presentan mayores riesgos para la inocuidad de los alimentos debido a la transferencia de patógenos de la superficie al interior, lo que da lugar a la internalización de la ECTS en la carne de bovino cruda previamente intacta (Johns *et al.*, 2011; CDC, 2010; Lewis *et al.*, 2013). Tales productos se deberían considerar como carne de bovino cruda "no intacta", y podría ser necesario brindar al consumidor orientaciones adecuadas para su manipulación inocua, incluidas las temperaturas de cocción (USDA FSIS, 2019; Health Canada, 2019), ya que estos productos pueden suponer un mayor riesgo para los consumidores.

64. Los fabricantes deberían procurar que los ablandadores mecánicos y el equipo de elaboración correspondiente se limpien de forma periódica para reducir al mínimo la posibilidad de transferir la ECTS desde la superficie exterior del producto hacia su interior y minimizar la posibilidad de contaminación cruzada dentro de un mismo lote de producción y entre lotes diferentes. Los fabricantes también deberían tener en cuenta las especificaciones de compra que exigen que la carne de bovino entrante que se va a ablandar se haya tratado para eliminar o reducir la ECTS como *E. coli* O157:H7 hasta un nivel indetectable o deberían aplicar dichos tratamientos antes del ablandamiento mecánico.

65. Se ha demostrado que los lavados antimicrobianos, como el ácido láctico, el ácido peroxiacético y el clorito sódico acidificado, reducen las concentraciones de *E. coli* O157:H7 y otras ECTS en la carne de bovino (es decir, en las canales, los cortes primarios u otros cortes) y se podrían utilizar para reducir al mínimo la contaminación de los materiales utilizados para fabricar carne de bovino molida/picada.

66. Entre las medidas para reducir al mínimo la contaminación por ECTS o la propagación de ECTS en la carne de bovino molida/picada, se pueden incluir las siguientes:

- [311]Almacenar los productos de modo que se evite la proliferación de ECTS. La proliferación de ECTS se inhibe por debajo de los 7°C, aunque unas temperaturas bajas no reducirían significativamente las ECTS. Los establecimientos deben controlar la ECTS, utilizando combinaciones adecuadas de tiempo y temperatura.
- Limpiar el equipo y el entorno de forma regular y asegurarse de que los trabajadores aplican buenas prácticas de higiene personal para evitar la contaminación cruzada.

- Establecer que toda la carne de bovino utilizada para moler se debe someter a pruebas previas y obtener resultados negativos para cepas específicas de ECTS, como *E. coli* O157:H7.
- Tratar las superficies exteriores de la carne con aerosoles de ácido orgánico u otros tratamientos aprobados antes de molerla o picarla.
- Enfriar adecuadamente la carne cruda durante la producción para reducir una posible proliferación de ECTS en caso de que esté presente.

67. Dado que procesos como el molido/picado pueden contribuir a propagar la contaminación en la carne, debería haber una mayor concienciación sobre el manejo de la carne en el resto de la cadena alimentaria.

4.5.6. Medidas de control específicas en el envasado y almacenamiento

68. Se han investigado una serie de tecnologías de conservación no térmicas (por ejemplo, luz pulsada, bioconservantes naturales, alta presión hidrostática, radiación ionizante) así como tecnologías de conservación térmica (por ejemplo, túneles de radiofrecuencia y microondas, calentamiento óhmico o pasteurización por vapor) para descontaminar la carne durante la elaboración o después del envasado final. El uso práctico de estos métodos depende de sus consecuencias en las propiedades organolépticas de la carne y de su uso final. Entre los factores que determinan la eficacia de tales tratamientos se incluyen la sensibilidad del microorganismo, la temperatura del entorno, las características intrínsecas del alimento (por ejemplo, contenido de grasa, sal, aditivos, pH, etc.) y el nivel inicial de contaminación (Aymerich *et al.*, 2008; Gill y Gill, 2010).

69. Durante el envasado y el almacenamiento, la combinación de tiempo y temperatura debería ser tal que no se pueda producir una proliferación de bacterias.

4.6. DISTRIBUCIÓN/VENTA AL POR MENOR

4.6.1. Medidas de control específicas en la distribución y venta al por menor

70. Durante el transporte y el almacenamiento de las canales, cortes de carne de bovino o carne de bovino molida/picada se debería mantener un control de las temperaturas de refrigeración a lo largo de la cadena de distribución, hasta que el producto llegue al consumidor.

71. Si el producto se retira del envase original para su posterior elaboración o división en porciones, se deberían observar buenas prácticas de higiene adecuadas para evitar su recontaminación por ECTS.

Condiciones de envasado

72. Los productos molidos/picados deberían ir acompañados de información suficiente para que el destinatario pueda manipular y preparar el producto de forma inocua, por ejemplo, indicando en la etiqueta las fechas de caducidad y la necesidad de una cocción completa.

73. Dado que no todos los productos ablandados se distinguen fácilmente de los no ablandados, pudiera ser necesario un etiquetado que indique que el producto está ablandado, junto con instrucciones de cocción validadas, para proporcionar a los consumidores y a los trabajadores de los servicios alimentarios la información esencial para preparar el producto de forma inocua (USDA FSIS, 2015).

4.7. CONSUMIDORES

74. El consumidor desempeña un papel importante en la prevención de las enfermedades por ECTS transmitidas por los alimentos durante la manipulación de la carne de bovino cruda en su domicilio y debería ser consciente de la forma correcta de cocinar y manipular la carne de bovino cruda.

75. Los consumidores deberían aplicar los principios generales para la inocuidad de los alimentos a fin de garantizar la inocuidad de la carne de bovino cruda que se manipule, prepare y consuma. Estos principios son los siguientes:

- Mantener limpios los lugares de preparación y consumo de alimentos.
- Separar los alimentos crudos de los cocinados para evitar o prevenir la contaminación cruzada.
- Cocinarlos por completo.
- Mantener los alimentos a temperatura inocua.
- Utilizar agua y materias primas inocuas para la preparación de los alimentos.

5. VALIDACIÓN DE LAS MEDIDAS DE CONTROL

Véase la sección general de esta orientación.

6. VIGILANCIA DE LAS MEDIDAS DE CONTROL

76. Los datos de vigilancia se utilizan para medir la eficacia de cualquier medida de control aplicada para establecer medidas alternativas o mejoradas, así como para identificar nuevas tendencias y peligros en materia de ECTS, vehículos alimentarios y prácticas de la cadena alimentaria (FAO/OMS, 2018).

77. La vigilancia del desempeño del proceso puede lograrse de manera más efectiva y eficiente a través de una vigilancia cuantitativa de los organismos indicadores de las condiciones de higiene. Estos organismos indicadores no suponen la presencia de patógenos, sino que proporcionan una medida cuantitativa del control de la contaminación microbiana en el producto y en su entorno de elaboración. También pueden llevarse a cabo análisis periódicos de detección de la ECTS de "alto riesgo"¹³ para verificar el desempeño del proceso (FAO/OMS, 2018).

78. Algunas carnes crudas de bovino necesitarán más medidas de control y vigilancia que otras (por ejemplo, la carne de bovino cruda no intacta, la carne de bovino cruda molida/picada, los recortes).

7. VERIFICACIÓN DE LAS MEDIDAS DE CONTROL Y REVISIÓN DE LAS MEDIDAS DE CONTROL

79. Realizar pruebas de detección de ECTS es una parte importante de la verificación del funcionamiento del proceso. Sin embargo, la ECTS suele estar presente en niveles muy bajos y se caracteriza por una distribución heterogénea (incluso en los productos molidos/picados), por lo que su detección resulta difícil. Esto significa que puede haber un retraso importante entre la pérdida de control de proceso y la detección de ECTS. Por ello, los programas de verificación deberían incluir también una vigilancia cualitativa de los organismos indicadores de la higiene. Los indicadores de higiene que se utilicen deberían ser aquellos que aporten más información sobre el entorno de elaboración específico. Algunos ejemplos de posibles indicadores de higiene son el recuento total de bacterias, el recuento de coliformes o coliformes fecales y el recuento de *E. coli* total. Un aumento en el número del indicador elegido indica un menor control, por lo que deberían adoptarse medidas correctivas. La rapidez para detectar una pérdida de control de la higiene en la fabricación aumenta con la frecuencia de verificación. La verificación en múltiples puntos de la cadena de elaboración puede contribuir a la rápida identificación del proceso concreto en el que deben tomarse las medidas correctivas.

80. También pueden realizarse análisis periódicos para detectar ECTS de "alto riesgo" con objeto de verificar el desempeño del proceso (FAO/OMS, 2018). El análisis del lote resulta de gran utilidad, en particular en la carne de bovino cruda destinada a su posterior transformación en carne molida/picada, y contribuye directamente a reducir las tasas de contaminación en la carne de bovino molida/picada que se comercializa al por menor y a promover la mejora continua del proceso.

81. Se debería llevar a cabo de forma rutinaria una verificación de otras medidas de control, por ejemplo, la concentración de ácido orgánico, la temperatura del tratamiento de vapor/vacío o de agua caliente, etc., además de realizar las pruebas microbiológicas adecuadas.

8. CONSIDERACIONES SOBRE LAS PRUEBAS DE LABORATORIO PARA LA DETECCIÓN DE ECTS EN LA CARNE DE BOVINO CRUDA

82. Los cortes intactos de carne de bovino cruda utilizados para fines distintos de la fabricación de productos acabados de carne de bovino cruda no presentan el mismo nivel de riesgo y, por lo tanto, podrían requerir menos tomas de muestras y análisis de laboratorio.

83. En general, la presencia de ECTS en los productos cárnicos es menor cuando se trata de productos cárnicos intactos que en los recortes o en la carne de bovino molida/picada (Kintz *et al.*, 2017; Develeeschauwer *et al.*, 2019). Sin embargo, la presencia general de ECTS en estos productos puede variar considerablemente debido a las diferencias en las condiciones e intervenciones en la elaboración primaria y en la etapa posterior a la elaboración.

84. Los niveles de ECTS en los productos no intactos y en la carne molida/picada a menudo son superiores a los de la carne de bovino intacta, ya que el tejido molido o alterado ofrece un entorno más propicio para la proliferación bacteriana. Además, muchas de las intervenciones en la elaboración y en la etapa posterior a ella son más eficaces si el patógeno objetivo está expuesto en la superficie de la carne en vez de alojado dentro de la matriz del tejido.

85. En las plantas de elaboración a gran escala, los recortes y la carne de bovino molida/picada proceden de los tejidos de múltiples canales, mientras que la carne de bovino cruda intacta procede en su mayor parte de

[340]¹³ Las ECTS de "alto riesgo" son generalmente aquellas que presentan factores de virulencia patógena que son responsables de un número significativo de casos de enfermedad o que causan las enfermedades más graves, y esto puede variar dependiendo del país.

cortes obtenidos de una única canal. El proceso de mezcla de tejidos de múltiples animales puede aumentar el riesgo de contaminación de la carne molida/picada.

REFERENCIAS

- FAO/OMS. 2018.** Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and food: attribution, characterization, and monitoring. Microbiological Risk Assessment Series 31, Report. https://www.who.int/foodsafety/publications/mra_31/en/
- Hussein y Bollinger, 2005.** Hussein S. Hussein; Laurie M. Bollinger. Prevalence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in beef cattle. *Journal of Food Protection*, Vol. 68, No. 10, 2005, Pages 2224–2241.
- Hussein y Sakuma, 2005.** Hussein S. Hussein and Toshie Sakuma. Shiga Toxin–Producing *Escherichia coli*: Pre- and Postharvest Control Measures to Ensure Safety of Dairy Cattle Products. *Journal of Food Protection*, Vol. 68, No. 1, 2005, Pages 199–207.
- Callaway et al., 2013.** T. R. Callaway, T. S. Edrington, G. H. Loneragan, M. A. Carr, D. J. Nisbet. Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* (STEC) Ecology in Cattle and management Based Options for Reducing Fecal Shedding. *Agric. Food Anal. Bacteriol.* 3: 39-69, 2013.
- Callaway et al., 2009.** Callaway TR, Carr MA, Edrington TS, Anderson RC, Nisbet DJ. Diet, *Escherichia coli* O157:H7, and cattle: a review after 10 years. *Curr. Issues Mol. Biol.* 11: 67-80.
- Callaway et al., 2002.** Callaway TR, Anderson RC, Genovese KJ, Poole TL, Anderson TJ, Byrd JA, Kubena LF, Nisbet DJ. Sodium chlorate supplementation reduces *E. coli* O157:H7 populations in cattle. *J. Anim. Sci.* 80:1683–1689
- Callaway et al., 2003.** Forage feeding to reduce preharvest *Escherichia coli* populations in cattle, a review. *J Dairy Sci.* 2003 Mar;86(3):852-60. Callaway TR1, Elder RO, Keen JE, Anderson RC, Nisbet DJ.
- Williams et al., 2014.** K.J.Williams, M.P.Ward, O.P.Dhungyel, E.J.S.Hall, L. Van Breda. A longitudinal study of the prevalence and super-shedding of *Escherichia coli* O157 in dairy heifers. *Veterinary Microbiology* 173 (2014) 101–109.
- Williams et al., 2015.** Risk factors for *Escherichia coli* O157 shedding and super-shedding by dairy heifers at pasture. *Epidemiol. Infect.* (2015), 143, 1004–1015. doi:10.1017/S0950268814001630
- Arthur et al., 2007.** Arthur TM, Bosilevac JM, Brichta-Harhay DM, Guerini MN, Kalchayanand N, Shackelford SD, Wheeler TL, Koohmaraie M. 2007. Transportation and lairage environment effects on prevalence, numbers, and diversity of *Escherichia coli* O157:H7 on hides and carcasses of beef cattle at processing. *Journal of Food Protection* 70:280-286.
- Arthur et al., 2011.** Arthur, T.M., Nou, X., Kalchayanand, N., Bosilevac, J.M., Wheeler, T., Koohmaraie, M. Survival of *Escherichia coli* O157:H7 on cattle hides. *Appl. Environ. Microbiol.* 77, 3002–3008. doi:10.1128/AEM.02238-10
- Brichta-Harhay et al., 2008.** Brichta-Harhay, D.M., Guerini, M.N., Arthur, T.M., Bosilevac, J.M., Kalchayanand, N., Shackelford, S.D., Wheeler, T.L., Koohmaraie, M., 2008. Salmonella and *Escherichia coli* O157:H7 contamination on hides and carcasses of cull cattle presented for slaughter in the United States: An evaluation of prevalence and bacterial loads by immunomagnetic separation and direct plating methods. *Appl. Environ. Microbiol.* 74, 6289–6297. doi:10.1128/AEM.00700-08
- Pollari et al., 2017.** F. Pollari, T. Christidis, K.D.M. Pintar, A. Nesbit, J. Farber, M.C. Lavoie, et al. Evidence for the benefits of food chain intervention on *E. coli* O157:H7?NM prevalence in retail ground beef human disease incidence: A success story. *Canadian Journal of Public Health*, 108 (N°1) (2017), pp. e71-e78.
- Thomas y Elliott, 2013.** Diana E. Thomas and Elizabeth J. Elliott *BMC Public Health* 2013, 13:799 <http://www.biomedcentral.com/1471-2458/13/799>.
- Venegas-Vargas et al., 2016.** Cristina Venegas-Vargas, Scott Henderson, Akanksha Khare, Rebekah E. Mosci, Jonathan D. Lehnert, Pallavi Singh, Lindsey M. Ouellette, Bo Norby, Julie A. Funk, Steven Rust, Paul C. Bartlett, Daniel Grooms, Shannon D. Manning. Factors Associated with Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* Shedding by Dairy and Beef Cattle. *Appl Environ Microbiol* 82:5049 –5056.
- Edrington et al., 2006.** Edrington TS1, Looper ML, Duke SE, Callaway TR, Genovese KJ, Anderson RC, Nisbet DJ. Effect of ionophore supplementation on the incidence of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* and antimicrobial susceptibility of fecal coliforms in Stocker cattle. *Foodborne Pathog Dis.* 2006 Fall;3(3):284-91.
- Edrington et al., 2009.** Tom S. Edrington, Russell L. Farrow, Guy H. Loneragan, Sam E. Ives, Michael J. Engler, John J. Wagner, Marilyn J. Corbin, William J. Platter, David Yates, John P. Hutcheson, Richard A.

Zinn, Todd R. Callaway, Robin C. Anderson, and David J. Nisbet. Influence of b-Agonists (Ractopamine HCl and Zilpaterol HCl) on Fecal Shedding of Escherichia coli O157:H7 in Feedlot Cattle. *Journal of Food Protection*, Vol. 72, No. 12, 2009, Pages 2587–2591.

Edrington et al., 2003 T.S. Edrington, T.R. Callaway, P.D. Varey, Y.S. Jung, K.M. Bischoff, R.O. Elder, R.C. Anderson, E. Kutter, A.D. Brabban and D.J. Nisbet. Effects of the antibiotic ionophores monensin, lasalocid, laidlomycin propionate and bambarmycin on Salmonella and E. coli O157:H7 in vitro. *Journal of Applied Microbiology* 2003, 94, 207–213.

Paddock et al., 2011. Z. D. Paddock, C. E. Walker, J. S. Drouillard, T. G. Nagaraja. Dietary monensin level, supplemental urea, and ractopamine on fecal shedding of Escherichia coli O157:H7 in feedlot cattle. *Journal of Animal Science*, Volume 89, Issue 9, September 2011, Pages 2829–2835.

Wang et al., 2013. Rong Wang, Mohammad Koochmaraie, Brandon E. Luedtke, Tommy L. Wheeler, and Joseph M. Bosilevac. Effects of In-Plant Interventions on Reduction of Enterohemorrhagic Escherichia coli and Background Indicator Microorganisms on Veal Calf Hides. *Journal of Food Protection*, Vol. 77, No. 5, 2014, Pages 745–751.

Snedeker, 2012. Snedeker, K. G., M. Campbell, and J. M. Sargeant. A systematic review of vaccinations to reduce the shedding of Escherichia coli O157 in the faeces of domestic ruminants. *Zoonoses Public Health* 59, 126–138.

Vogstad et al., 2013. A. R. Vogstad, R. A. Moxley, G. E. Erickson, T. J. Klopfenstein and D. R. Smith. Stochastic Simulation Model Comparing Distributions of STEC O157 Faecal Shedding Prevalence Between Cattle Vaccinated with Type III Secreted Protein Vaccines and Non-Vaccinated Cattle. *Zoonoses and Public Health*, 2014, 61, 283–289.

Stein y Katz, 2017 Richard A. Stein and David E. Katz. Escherichia coli, cattle and the propagation of disease. *FEMS Microbiology Letters*, 364, 2017

Dewell et al., 2008. G. A. Dewell, C. A. Simpson, R. D. Dewell, D. R. Hyatt, K. E. Belk, J. A. Scanga, P. S. Morley, T. Grandin, G. C. Smith, D. A. Dargatz, B. A. Wagner, And M. D. Salman. Impact of Transportation and Lairage on Hide Contamination with Escherichia coli O157 in Finished Beef Cattle. *Journal of Food Protection*, Vol. 71, No. 6, 2008, Pages 1114–1118.

Byrne et al., 2000. C.M. Byrne, D.J. Bolton, J.J. Sheridan, D.A. Mcdowell and I .S. Blair. The effects of preslaughter washing on the reduction of Escherichia coli O157:H7 transfer from cattle hides to carcasses during slaughter. *Letters in Applied Microbiology* 2000, 30, 142–145

Bosilevac et al., 2005. Joseph M. Bosilevac, Xiangwu Nou, Matthew S. Osborn, Dell M. Allen, And Mohammad Koochmaraie. Development and Evaluation of an On-Line Hide Decontamination Procedure for Use in a Commercial Beef Processing Plant. *J. Food Prot.*, Vol. 68, No. 2

Yang et al., 2015 Yang X, Badoni M, Tran F, Gill CO. 2015. Microbiological effects of a routine treatment for decontaminating hide-on carcasses at a large beef packing plant. *Journal of Food Protection* 78:256-263

Gill 2009. C.O. Gill. Effects on the microbiological condition of product of decontaminating treatments routinely applied to carcasses at beef packing plants. *J. Food Prot.*, 72 (2009), pp. 1790-1801

Gill y Landers, 2003. Gill C.O, Landers C. Effects of spray-cooling processes on the microbiological conditions of decontaminated beef carcasses. *J Food Prot.* 2003 Jul;66(7):1247-52.

Gill y Baker et al., 1998. C.O. GILL and L.M. BAKER. Trimming, Vacuum Cleaning Or Hot Water-Vacuum Cleaning Effects Of Lamb Hindsaddles. *Journal of Muscle Foods* 9 (1998) 391 – 401.

Gill y Gill, 2010. A. Gill, C.O. Gill. Non-O157 verotoxigenic Escherichia coli and beef: A Canadian perspective. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 74 (3) (2010), pp. 161-169

A. Gill et al., 2019. Alexander Gill, Sandeep Tamber, Xianqin Yang. Relative response of populations of Escherichia coli and Salmonella enterica to exposure to thermal, alkaline and acidic treatments. *International Journal of Food Microbiology* 293 (2019) 94–101

Gill y Bryant, 2000. The effects on product of a hot water pasteurizing treatment applied routinely in a commercial beef carcass dressing process. *Food Microbiology*, Volume 17, Issue 5, October 2000, Pages 495-504. <https://doi.org/10.1006/fmic.2000.0344>

Gill y Jones, 2006. Setting control limits for Escherichia coli counts in samples collected routinely from pig or beef carcasses. *J Food Prot* (2006) 69 (12): 2837–2842. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-69.12.2837>.

- Berry y Cutter, 2000.** Effects of acid adaptation of *Escherichia coli* O157:H7 on efficacy of acetic acid spray washes to decontaminate beef carcass tissue. *Appl Environ Microbiol.* 2000 Apr; 66(4): 1493–1498. doi: 10.1128/aem.66.4.1493-1498.2000
- Retzlaff et al., 2005.** Retzlaff, D., Phebus, R., Kastner, C., & Marsden, J. (2005). Establishment of minimum operational parameters for a high-volume static chamber steam pasteurization system (SPS 400-SC (TM)) for beef carcasses to support HACCP programs. *Foodborne Pathogens and Disease*, 2(2), 146–151.
- Dorsa et al., 1996,** Dorsa, W. J., C. N.Cutter, G. R. Siragusa, and M. Koohmaraie. Microbial decontamination of beef and sheep carcasses by steam, hot water spray washes, and a steam-vacuum sanitizer. *J. Food Prot.*59:127-135.
- Dorsa et al., 1997.** Dorsa, W. J. 1997. New and established carcass decontaminating procedures commonly used in the beef-processing industry. *J. Food Prot.* 60:1146–1151
- Kochevar et al.,1997.** Kochevar, S. L., Sofos, J. N., Bolin, R. R., Reagan, J. O., & Smith, G. C. (1997). Steam vacuuming as a pre-evisceration intervention to decontaminate beef carcasses. *Journal of Food Protection*, 60(2), 107–113.
- Koohmaraie et al., 2005.** M. Koohmaraie, T.M. Arthur, J.M. Bosilevac, M. Guerini, S.D. Shackelford, T.L. Wheeler. Post-harvest interventions to reduce/eliminate pathogens in beef. *Meat Science*, 71 (1) (2005), pp. 79-91.
- Liu Y et al., 2016,** Liu Y, Youssef MK, Yang X. 2016. Effects of dry chilling on the microflora on beef carcasses at a Canadian beef packing plant. *Journal of Food Protection* 79:538-543.
- Kocharunchitt et al., 2020.** Kocharunchitt C, Mellefont L, Bowman JP, Ross T. 2020. Application of chlorine dioxide and peroxyacetic acid during spray chilling as a potential antimicrobial intervention for beef carcasses. *Food Microbiology* 87:103355.
- Kalchayanand et al., 2012.** Norasak Kalchayanand,* Terrance M. Arthur, Joseph M. Bosilevac, John W. Schmidt, Rong Wang, Steven D. Shackelford, and Tommy L. Wheeler .Evaluation of Commonly Used Antimicrobial Interventions for Fresh Beef Inoculated with Shiga Toxin–Producing *Escherichia coli* Serotypes O26, O45, O103, O111, O121, O145, and O157:H7. *Journal of Food Protection*, Vol. 75, No. 7, 2012, Pages 1207–1212.
- Signorini et al., 2018.** Signorini, M., Costa, M., Teitelbaum, D., Restovich, V., Brasesco, H., García, D., Valeria, V., Petroli, S., Bruzzone, M., Arduini, V., Vanzini, M., Sucari, A., Suberbie, G., Maricel, T., Rodríguez, R., and Leotta, G.A. (2018) Evaluation of decontamination efficacy of commonly used antimicrobial interventions for beef carcasses against Shiga toxin-producing *Escherichia coli*. *Meat Science* 142:44-51.
- Huffman, 2002.** Current and future technologies for the decontamination of carcasses and fresh meat. *Meat Science* 62 (2002) 285–294.
- Lejeune et al., 2001.** LeJeune, J. T., Besser, T. E., & Hancock, D. D. (2001). Cattle water troughs as reservoirs of *Escherichia coli* O157:H7. *Environ. Microbiol*, 67, 3053–3057.
- Martorelli et al., 2015.** Impact of Infection Dose and Previous Serum Antibodies against the Locus of Enterocyte Effacement Proteins on *Escherichia coli* O157:H7 Shedding in Calves following Experimental Infection. *BioMed Research International*.
- Vilte et al., 2011.** D. A. Vilte, M. Larzabal, S. Garbaccio et al., “Reduced faecal shedding of *Escherichia coli* O157:H7 in cattle following systemic vaccination with γ -intimin C280 and EspB proteins,” *Vaccine*, vol. 29, no. 23, pp. 3962–3968, 2011
- Vilte et al., 2012.** D. A. Vilte, M. Larzabal, U. B. Mayr et al., “A systemic vaccine based on *Escherichia coli* O157:H7 bacterial ghosts (BGs) reduces the excretion of *E. coli* O157:H7 in calves,” *Veterinary Immunology and Immunopathology*, vol. 146, no. 2, pp. 169–176, 2012.
- LeJeune y Wetzel, 2007.** Preharvest control of *Escherichia coli* O157 in cattle. *J ANIM SCI* 2007, 85:E73-E80. doi: 10.2527/jas.2006-612
- Aymerich et al., 2008.** Aymerich T, Picouet PA, and Monfort JM. 2008. Decontamination technologies for meat products. *Meat Sci* 78:114-129
- Rozema et al., 2009.** Oral and Rectal Administration of Bacteriophages for Control of *Escherichia coli* O157:H7 in Feedlot Cattle. *Journal of Food Protection*, Vol. 72, No. 2, 2009, Pages 241–250.
- Stromberg et al., 2018.** Detection, Prevalence, and Pathogenicity of Non-O157 Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* from Cattle Hides and Carcasses. *Foodborne Pathog Dis.* 2018 Mar;15(3):119-131. doi: 10.1089/fpd.2017.2401.

Persad y LeJeune, 2014. Animal Reservoirs of Shiga Toxin-Producing Escherichia coli. Microbiol Spectr. 2014 Aug;2(4):EHEC-0027-2014. doi: 10.1128/microbiolspec.EHEC-0027-2014

Wells et al., 2017. Evaluation of Commercial β -Agonists, Dietary Protein, and Shade on Fecal Shedding of Escherichia coli O157:H7 from Feedlot Cattle. Foodborne Pathogens and Disease Vol. 14, No. 11. <https://doi.org/10.1089/fpd.2017.2313>

Wisener et al., 2015. The use of direct-fed microbials to reduce shedding of Escherichia coli O157 in beef cattle: a systematic review and meta-analysis. Zoonoses Public Health. 2015 Mar;62(2):75-89. doi: 10.1111/zph.12112.

ANEXO 2. HORTALIZAS DE HOJA VERDE FRESCAS

INTRODUCCIÓN

1. Las hortalizas de hoja verde frescas se cultivan, elaboran y consumen en todo el mundo. Se cultivan en explotaciones agrícolas que varían en tamaño, se distribuyen y comercializan tanto local como mundialmente para que estén disponibles durante todo el año para los consumidores y se venden como productos frescos, precortados o como otros productos listos para el consumo (LPC) como las ensaladas preenvasadas.

2. Los brotes de enfermedades causadas por una amplia gama de patógenos microbianos, incluida la *Escherichia coli* productora de toxina Shiga (ECTS), se han relacionado con el consumo de verduras de hoja verde frescas (Bottichio *et al.*, 2019; CDC, 2006, 2012, 2020; Gobin *et al.*, 2018; Herman *et al.*, 2015; Kintz *et al.*, 2019; Kinnula *et al.*, 2018; Marden *et al.*, 2014; Sharapov *et al.*, 2006). Las pruebas epidemiológicas, las investigaciones sobre brotes, las investigaciones y las evaluaciones de riesgo han identificado varias fuentes posibles de contaminación de las hortalizas de hoja verde frescas con ECTS, entre ellas el agua, los animales domésticos y silvestres, los trabajadores y las enmiendas del suelo a base de estiércol (Berry *et al.*, 2015; Gelting *et al.*, 2011; Islam *et al.*, 2004; Jay-Russell *et al.*, 2014; Jongman y Korsten, 2018; Olaimat y Hoolley, 2012; Soderstrom *et al.*, 2008). Las hortalizas de hoja verde frescas suelen cultivarse y cosecharse en grandes volúmenes, cada vez con más frecuencia en lugares donde la cosecha y la distribución de estas hortalizas es eficiente y rápida. Las hortalizas de hoja verde frescas se envasan de diversas maneras, entre ellas: en el campo, directamente para su comercialización; en el campo, sin corazón y preparadas para su elaboración posterior, y como mezclas de hortalizas de hoja verde frescas precortadas y combinadas con otras hortalizas. Las medidas de control como los lavados antimicrobianos se pueden aplicar antes del envasado o antes del envío para su comercialización. También existe la posibilidad de que se introduzcan y proliferen patógenos, entre ellos la ECTS, a medida que las hortalizas de hoja verde frescas avanzan a lo largo de la cadena de suministro. El creciente uso en todo el mundo de las hortalizas de hoja verde recién cortadas y preenvasadas para ampliar la cadena de suministro podría aumentar la posibilidad de contaminación cruzada con ECTS y su replicación durante la distribución y el almacenamiento. No se aplican tratamientos de elaboración que pudieran eliminar o inactivar la ECTS, si bien se puede reducir la contaminación mediante un lavado con agua que contenga antimicrobianos. Los ejemplos de medidas de control en el campo que se proporcionan en el presente documento son solamente ilustrativos, y su uso y aprobación podría variar entre los países miembros.

3. Se reconoce que algunas de las disposiciones del presente anexo pueden ser difíciles de aplicar en zonas donde la producción primaria se lleva a cabo en pequeñas explotaciones, tanto en países desarrollados como en desarrollo, así como en zonas donde se practica la agricultura tradicional. Por consiguiente, este anexo es flexible, a fin de dar cabida a diferentes sistemas de control y prevención de la contaminación para diferentes prácticas culturales y condiciones de crecimiento. La figura 1 muestra un diagrama de flujo que ilustra el flujo general de elaboración para las hortalizas de hoja verde frescas. Este diagrama de flujo tiene únicamente carácter ilustrativo. Los pasos pueden no tener lugar en todas las operaciones (como se muestra con líneas discontinuas) y pueden no ocurrir en el orden que se presenta en el diagrama de flujo.

1. OBJETIVO

4. El objetivo del presente anexo es proporcionar orientación para reducir el riesgo de enfermedades transmitidas por los alimentos provocadas por ECTS asociado con las hortalizas de hoja verde frescas que están destinadas al consumo humano sin cocción, durante la producción, la cosecha, el envasado, la elaboración, el almacenamiento, la distribución, la comercialización y el uso por parte del consumidor.

2. ÁMBITO DE APLICACIÓN Y DEFINICIONES

2.1 Ámbito de aplicación

5. El presente anexo comprende orientación específica para el control de la ECTS relacionada con las hortalizas de hoja verde frescas, que están destinadas a consumirse sin someterse a cocción. A efectos del presente anexo, las hortalizas de hoja verde frescas comprenden todas las hortalizas de naturaleza foliar cuyas hojas estén destinadas al consumo sin cocinar, entre otras, todas las variedades de lechuga espinacas, repollo, achicoria, endivia, col rizada, achicoria morada y hierbas frescas como el cilantro, la albahaca, la hoja de curry, las hojas de colocasia y el perejil. El anexo es aplicable a las hortalizas de hoja verde frescas cultivadas en campos abiertos o en instalaciones total o parcialmente protegidas (sistemas hidropónicos, invernaderos o entornos controlados, túneles, etc.).

2.2 Definiciones

6. Véanse los *Principios generales de higiene de los alimentos* (CXC 1-1969) y el *Código de prácticas de higiene para las frutas y hortalizas frescas* (CXC 53-2003), que incluye el Anexo I sobre frutas y hortalizas

frescas precortadas listas para el consumo y el ámbito de aplicación del Anexo III sobre hortalizas de hoja verde frescas.

Hortalizas de hoja verde frescas: Hortalizas de naturaleza foliar [cuyas hojas están destinadas al consumo] [que pueden consumirse] sin cocinar, entre otras, todas las variedades de lechuga, espinaca, repollo, achicoria, endivia, col rizada, achicoria morada y hierbas frescas como el cilantro, la albahaca, la hoja de curry, las hojas de colocasia y el perejil, entre otros productos locales de consumo foliar.

3. PRODUCCIÓN PRIMARIA

7. Véanse los *Principios generales de higiene de los alimentos* (CXC 1-1969) y el *Código de prácticas de higiene para las frutas y hortalizas frescas* (CXC 53-2003). Como se señala en el documento CXC 1-1969, se pueden aplicar algunos de los principios del HACCP a la producción primaria y es posible incorporarlos a las buenas prácticas agrícolas para la producción de hortalizas de hoja verde frescas con objeto de reducir al mínimo la contaminación por ECTS.

8. Se cree que la mayor parte de la contaminación de las hortalizas de hoja verde frescas por ECTS se produce durante la producción primaria (FAO/OMS, 2008; Julien-Javaux, 2019; Mogren *et al.*, 2018; Monaghan *et al.*, 2016). Las hortalizas de hoja verde frescas se cultivan y recolectan en una amplia variedad de condiciones climáticas y geográficas. Se pueden cultivar en instalaciones de producción cerradas (por ejemplo, invernaderos) y al aire libre, recolectarse, y envasarse en el campo o transportarse a un establecimiento de envasado, empleando distintos insumos y tecnologías agrícolas, y en explotaciones agrícolas de diferentes dimensiones. Para cada zona de producción primaria es necesario examinar las prácticas y procedimientos agrícolas que podrían reducir al mínimo la posibilidad de contaminación de las hortalizas de hoja verde con ECTS, teniendo en cuenta las condiciones concretas de la zona de producción primaria, los tipos de productos y los métodos de cultivo (incluido el riego) y cosecha utilizados.

3.1 Condiciones ambientales

9. Antes de las actividades de producción primaria, deberían identificarse las posibles fuentes de contaminación por ECTS. En la medida de lo posible, los productores deberían evaluar la utilización pasada y presente de los lugares, tanto abiertos como cerrados, de producción primaria de hortalizas de hoja verde frescas, así como de los terrenos cercanos y aledaños (por ejemplo, producción pecuaria, planta de tratamiento de aguas cloacales) para identificar las posibles fuentes de ECTS. La evaluación de las condiciones ambientales reviste particular importancia porque las intervenciones posteriores podrían no ser suficientes para eliminar por completo la contaminación por ECTS que ocurra durante la producción primaria y, en algunos casos, las condiciones podrían permitir la proliferación de ECTS y, por lo tanto, aumentar el riesgo de enfermedad para los consumidores.

10. Si el medio ambiente presenta una probabilidad de que el lugar de producción primaria se contamine con ECTS, deberían implementarse medidas para minimizar la posibilidad de contaminación de las hortalizas de hoja verde frescas en dicho lugar. Estos lugares de producción no deberían utilizarse para la producción de hortalizas de hoja verde frescas cuando existan estas posibilidades y no se puedan reducir al mínimo.

11. No es posible controlar los efectos de algunos eventos ambientales. Por ejemplo, las lluvias torrenciales pueden incrementar la exposición de las hortalizas de hoja verde frescas a la ECTS, si la tierra está contaminada con ECTS y llega a salpicarlas. Cuando se produzcan lluvias torrenciales, los productores deberían evaluar la necesidad de posponer la recolección de las hortalizas de hoja verde frescas para el consumo sin cocción o someterlas a un tratamiento que reduzca al mínimo la exposición de los consumidores a ECTS. No se deberían consumir crudas las hortalizas de hoja verde frescas que hayan tenido contacto con agua de inundaciones si no se someten a ninguna medida de mitigación del riesgo de ECTS para los consumidores. Esto no se refiere a la inundación de los surcos para el riego, cuando la fuente de agua es conocida y de calidad adecuada y no es resultado de un fenómeno meteorológico.

3.1.1 Ubicación del lugar de producción

12. Las instalaciones de producción pecuaria situadas cerca de los lugares donde se cultivan hortalizas de hoja verde frescas y el hecho de que accedan a ellos animales silvestres pueden suponer una probabilidad significativa de contaminación de los campos de producción o de las fuentes de agua con ECTS. Las operaciones concentradas de alimentación animal y las tierras de pastoreo de ganado bovino presentan un riesgo significativo de contaminación de las hortalizas de hoja verde en el campo (FDA, 2020; Berry *et al.*, 2015; Yanamala *et al.*, 2011); aunque existen directrices que establecen la distancia entre los campos y las operaciones pecuarias próximas (California Leafy Green Products Handler Marketing Agreement (CA-LGMA), 2019), la distancia segura depende de factores que pueden aumentar o disminuir el riesgo de contaminación, como la topografía del terreno y la posibilidad de escorrentía del agua desde dichas operaciones o a través de ellas (CA-LGMA, 2019). Los productores deberían evaluar la posibilidad de que se produzca dicha contaminación y tomar medidas para mitigar el riesgo de contaminación por ECTS asociada con la escorrentía

y las inundaciones (por ejemplo, construcción de terraplenes, cavar zanjas poco profundas para prevenir que la escorrentía llegue al campo).

3.1.2 Actividad animal

13. Algunos animales silvestres y domésticos presentes en el ambiente de producción primaria son conocidos por ser vectores potenciales de ECTS. Los animales silvestres representan un riesgo especialmente difícil de gestionar porque su presencia es intermitente. A fin de reducir al mínimo la posibilidad de contaminación de las hortalizas de hoja verde frescas con ECTS procedente de animales, es de particular importancia lo siguiente:

- Deberían utilizarse métodos adecuados para apartar a los animales de las zonas de producción primaria y manipulación, en la medida de lo posible. Entre los posibles métodos cabe citar el uso de barreras físicas (por ejemplo, vallas) y de elementos activos de disuasión (por ejemplo, dispositivos que producen ruido, espantapájaros, imágenes de búhos, tiras de papel de aluminio).
- Las zonas de producción primaria y de manipulación deberían estar bien diseñadas y mantenerse adecuadamente para reducir la probabilidad de atraer animales que puedan contaminar con ECTS las hortalizas de hoja verde frescas. Entre los posibles métodos se incluye reducir al mínimo el agua estancada en los campos, restringir el acceso de animales a las fuentes de agua, y mantener las zonas de producción y manipulación libres de residuos y desorden.
- Se deberían examinar periódicamente las zonas de producción primaria de las hortalizas de hoja verde frescas para detectar evidencias de la presencia de actividad de animales silvestres o domésticos (por ejemplo, la presencia de heces de animales, nidos de aves, pelos/pieles, áreas grandes con huellas de animales, madrigueras, restos en descomposición, cultivos dañados por pastoreo), sobre todo en la época cercana a la recolección. Cuando exista esta evidencia, los productores deberían evaluar los riesgos para determinar si las hortalizas de hoja verde frescas de la zona afectada del lugar de producción se deberían cosechar para el consumo sin cocción (Wells *et al.*, 2019).

3.2 Higiene en la producción primaria de hortalizas de hoja verde frescas

3.2.1 Agua para la producción primaria

14. Existen varios parámetros que pueden incidir en la probabilidad de contaminación de las hortalizas de hoja verde frescas por ECTS: la fuente de agua utilizada para el riego y la aplicación de fertilizantes y plaguicidas, el tipo de riego (por ejemplo, por goteo, aspersores, rociadores), si la parte comestible de las hortalizas de hoja verde frescas entra en contacto directo con el agua de riego o de otro tipo, el momento del riego en relación con la cosecha y, lo que es aún más importante, la presencia de ECTS en el agua de riego. Los productores deberían evaluar las fuentes de agua utilizadas en la explotación agrícola para determinar la probabilidad de contaminación por ECTS e identificar las medidas correctivas para prevenir o reducir al mínimo la contaminación por ECTS (por ejemplo, procedente del ganado, de la fauna silvestre, del tratamiento de aguas residuales, de los asentamientos humanos, de las operaciones relativas al estiércol y del compostaje o de otro tipo de contaminación ambiental intermitente o temporal, como las lluvias torrenciales o las inundaciones). Véase la Sección 3.2.1.1 del *Código de prácticas de higiene para las frutas y hortalizas frescas* (CXC 53-2003).

15. Cuando sea necesario, los productores deberían analizar el agua que utilizan para detectar la presencia de organismos indicadores adecuados y, cuando sea necesario, de ECTS, de acuerdo con el riesgo asociado a la producción. La frecuencia de los análisis dependerá de la fuente de la que proceda el agua (es decir, menor para pozos profundos debidamente mantenidos y más elevada para las aguas superficiales), los riesgos de contaminación ambiental, incluida la contaminación temporal o intermitente (por ejemplo, lluvias torrenciales, inundaciones) o de la aplicación de un nuevo proceso de tratamiento de aguas por parte de los productores. Si se determina que la fuente de agua contiene niveles inaceptables de organismos indicadores o que está contaminada con ECTS, deberían tomarse medidas correctivas con el fin de garantizar que el agua sea idónea para el uso previsto. Las posibles medidas correctivas para prevenir o reducir al mínimo la contaminación del agua en la producción primaria pueden incluir la instalación de cercas para evitar el contacto con animales de especies mayores, el mantenimiento adecuado de los pozos, la filtración del agua, el tratamiento químico del agua, evitar agitar el sedimento durante la obtención de agua, la construcción de estanques de decantación o de retención o instalaciones de tratamiento de aguas. Debería verificarse la efectividad de las acciones correctivas mediante análisis periódicos del agua. Cuando sea posible, los productores deberían tener un plan de contingencia para establecer una fuente alternativa de agua apta para su uso.

16. Es especialmente importante que en las operaciones de cultivos hidropónicos se mantenga la calidad del agua utilizada como medio de crecimiento de las hortalizas de hoja verde frescas, a fin de reducir la

probabilidad de contaminación y la supervivencia de la ECTS; la solución de nutrientes empleada puede favorecer la supervivencia o la proliferación de ECTS. Véase la Sección 3.2.1.1.3 del *Código de prácticas de higiene para las frutas y hortalizas frescas* (CXC 53-2003).

3.2.2 Estiércol, biosólidos y otros fertilizantes naturales

17. El empleo de estiércol, biosólidos y otros fertilizantes naturales en la producción de hortalizas de hoja verde frescas debería realizarse de manera que se limite la posibilidad de contaminación con ECTS, que puede persistir en el estiércol, los biosólidos y otros fertilizantes naturales durante semanas o incluso meses, si el tratamiento de estos materiales es inadecuado (Shepherd *et al.*, 2007; Gurtler *et al.*, 2018). El compostaje puede ser eficaz para controlar la ECTS en el estiércol, dependiendo de factores como el tiempo, la temperatura, los microorganismos indígenas, la humedad, la composición del compost, el tamaño de la pila y el volteo de esta última (Jiang *et al.*, 2003; Shepherd *et al.*, 2007; Gurtler *et al.*, 2018, Gonçalves y Marin, 2007; Rigobelo *et al.*, 2016). Otro método de tratamiento del estiércol incluye la digestión anaerobia (Alegbeleye y Sant'Ana, 2020; Martens y Böhm, 2009) Los métodos de tratamiento deberían estar validados para inactivar la ECTS. Véase la Sección 3.2.1.2 del *Código de prácticas de higiene para las frutas y hortalizas frescas* (CXC 53-2003), donde se mencionan las prácticas destinadas a reducir al mínimo los patógenos microbianos como la ECTS en el estiércol, los biosólidos y otros fertilizantes naturales.

3.2.3 Salud e higiene del personal y servicios sanitarios

18. Deberían cumplirse los requisitos de salud e higiene para que no exista la posibilidad de que las hortalizas de hoja verde frescas resulten contaminadas con ECTS por el personal que entra en contacto directo con ellas, durante la recolección o después de ella. Un acceso y uso adecuados de las instalaciones higiénicas y sanitarias, incluidos medios apropiados para lavarse y secarse las manos de manera higiénica, son fundamentales para reducir al mínimo la posibilidad de que los trabajadores contaminen las hortalizas de hoja verde frescas. No debería permitirse que las personas que se sabe o se sospecha que padecen una enfermedad debida a ECTS ingresen a ninguna zona en la que se manipulen hortalizas de hoja verde frescas, incluida la zona de recolección. Véase la Sección 3.2.3 del *Código de prácticas de higiene para las frutas y hortalizas frescas* (CXC 53-2003), donde se mencionan las prácticas destinadas a reducir al mínimo los patógenos microbianos como la ECTS.

3.2.4 Cosecha

19. Antes de la recolección, el campo debería evaluarse para determinar si hay intrusión de animales, detectar la presencia de depósitos fecales o de otras fuentes de contaminación por ECTS, a fin de establecer si el campo o partes de él no debieran cosecharse. Los productores deberían evitar el traslado del equipo de recolección entre los distintos campos cuando se ha aplicado estiércol o compostaje. El equipo de recolección debería limpiarse y desinfectarse cuando así se requiera para evitar la contaminación de las hortalizas de hoja verde frescas (por ejemplo, si el equipo pasa por un área en la que existe intrusión de animales y depósitos fecales). Los recipientes almacenados en el exterior deberían limpiarse y, si procede, se deberían desinfectar antes de usarse para el transporte de hortalizas de hoja verde.

3.2.5 Envasado en el campo

20. Cuando se envasen las hortalizas de hoja verde frescas en el campo, se debería tener cuidado para evitar la contaminación de los envases o cajones por exposición al estiércol u otras fuentes de contaminación. Cuando a las hortalizas de hoja verde frescas se las recorta o se les quita el corazón en el campo, los cuchillos y los bordes de corte deberían limpiarse y desinfectarse con frecuencia para reducir al mínimo la posibilidad de contaminación cruzada con ECTS.

3.2.6 Almacenamiento y transporte desde el campo al establecimiento de envasado o elaboración

21. Las hortalizas de hoja verde deberían almacenarse y transportarse en condiciones que reduzcan al mínimo la posibilidad de contaminación o de proliferación de ECTS. Las hortalizas de hoja verde no deberían transportarse en vehículos que se hayan utilizado anteriormente para llevar hortalizas de raíz muy sucias, animales vivos, estiércol animal, compost o biosólidos.

4. OPERACIONES DE ENVASADO

22. Véanse los *Principios generales de higiene de los alimentos* (CXC 1-1969) y el *Código de prácticas de higiene para las frutas y hortalizas frescas* (CXC 53-2003).

4.1 Control del tiempo y la temperatura

23. Véanse los *Principios generales de higiene de los alimentos* (CXC 1-1969). El control del tiempo y la temperatura [es decir, 7°C o menos] durante el envasado y el almacenamiento es esencial para evitar la proliferación de la ECTS que pudiera estar presente, ya que un aumento del número de ECTS incrementa el riesgo de enfermedad.

4.2 Enfriamiento de las hortalizas de hoja verde frescas

24. En la medida de lo posible, el enfriamiento de las hortalizas de hoja verde frescas debería realizarse tan rápidamente como sea posible para reducir al mínimo la proliferación de cualquier ECTS que pueda estar presente y de manera que no contribuya a la contaminación del producto por ECTS. Por ejemplo, las hortalizas de hoja verde frescas pueden enfriarse inmediatamente después de la recolección mediante hielo (como para el perejil), circulación forzada de aire, enfriamiento por vacío (como para la lechuga americana), enfriamiento por agua helada o enfriamiento por hidrovacío (*hydrovac*).

25. Si el agua utilizada para el enfriamiento entra en contacto directo con las hortalizas de hoja verde frescas, debería controlarse, vigilarse y registrarse para asegurar que la concentración de biocidas sea suficiente para reducir al mínimo la probabilidad de contaminación cruzada.

4.3 Lavado de hortalizas de hoja verde frescas

26. Los envasadores que lavan hortalizas de hoja verde frescas deberían seguir las buenas prácticas de higiene (BPH) para evitar o reducir al mínimo la posibilidad de introducir o propagar la ECTS en el agua de lavado. Cuando se utilicen biocidas, deberían añadirse al agua de lavado de acuerdo con las BPH, vigilando, controlando y registrando periódicamente los niveles durante la producción para garantizar que se mantengan concentraciones efectivas (Zhang, *et al.*, 2009; Nou *et al.*, 2011; Lou *et al.*, 2012; López-Gálvez *et al.*, 2019; Tudela *et al.*, 2019(a), 2019(b)). Se deberían controlar, vigilar y registrar las características del agua utilizada en las operaciones postcosecha que puedan afectar a la eficacia de los tratamientos biocidas (por ejemplo, el pH, la turbidez y la dureza del agua) (Gombas, *et al.*, 2017).

5. OPERACIONES DE ELABORACIÓN

27. Véanse los *Principios generales de higiene de los alimentos* (CXC 1-1969) y el *Código de prácticas de higiene para las frutas y hortalizas frescas* (CXC 53-2003), que incluye el Anexo III sobre hortalizas de hoja verde frescas y el Anexo I sobre frutas y hortalizas frescas precortadas listas para el consumo.

28. Se recomienda que las zonas de manipulación de las hortalizas de hoja verde frescas sin elaborar estén físicamente separadas de las zonas de elaboración para reducir al mínimo la contaminación por ECTS. La elaboración, con algunas excepciones (por ejemplo, la cocción) no puede eliminar por completo la contaminación por ECTS que pueda haberse producido durante la producción primaria de las hortalizas de hoja verde frescas. Los elaboradores deberían asegurarse de que los productores, recolectores, envasadores y distribuidores hayan aplicado medidas para reducir al mínimo la contaminación de las hortalizas de hoja verde frescas durante la producción primaria, así como durante su posterior manipulación, de conformidad con las disposiciones del *Código de prácticas de higiene para las frutas y hortalizas frescas* (CXC 53-2003).

5.1 Control del tiempo y la temperatura

29. Véanse los *Principios generales de higiene de los alimentos* (CXC 1-1969). El control del tiempo y de la temperatura durante el almacenamiento previo a la elaboración, la elaboración y el almacenamiento posterior a ella es esencial para evitar la proliferación de la ECTS que pueda estar presente, ya que un aumento del número aumenta el riesgo de enfermedad para el consumidor.

5.2 Recortado, extracción del corazón, cortado y desmenuzado de las hortalizas de hoja verde frescas

30. Los cuchillos y otras herramientas de corte, el equipo y cualquier otra superficie de contacto deberían limpiarse y desinfectarse con frecuencia para reducir al mínimo la posibilidad de transferencia de la ECTS.

5.3 Lavado y desecado/secado de las hortalizas de hoja verde frescas cortadas

31. El lavado y el secado son pasos importantes en el control de la ECTS para las hortalizas de hoja verde frescas cortadas. Véase la Sección 4.3 anterior y la Sección 5.2.2.5.1 del Anexo I sobre frutas y hortalizas frescas precortadas listas para el consumo del *Código de prácticas de higiene para las frutas y hortalizas frescas* (CXC 53-2003).

5.4 Almacenamiento en frío

32. Las hortalizas de hoja verde frescas deberían mantenerse a temperaturas adecuadas [es decir, 7°C o menos] después del enfriamiento para reducir al mínimo la proliferación de la ECTS que pueda estar presente. Debería vigilarse, controlarse y registrarse la temperatura del almacenamiento en frío.

5.5 Especificaciones microbiológicas y de otra índole

33. La realización de análisis microbiológicos para detectar ECTS en las hortalizas de hoja verde frescas y en el agua para la producción primaria tiene actualmente una utilidad limitada debido a la dificultad para detectar la presencia de ECTS por la baja prevalencia y el bajo número de organismos en las hortalizas de hoja verde frescas y en el agua. Los análisis de las hortalizas de hoja verde frescas para detectar organismos

indicadores, complementados, cuando proceda, por análisis periódicos para la detección de ECTS, pueden constituir una herramienta útil para evaluar y verificar la inocuidad del producto y la eficacia de las medidas de control, y proporcionar información acerca del ambiente, un proceso o incluso de un lote específico de producto, cuando los planes de muestreo y la metodología de análisis han sido diseñados y aplicados adecuadamente. Es necesario establecer y definir las medidas que se adoptarán en caso de resultados positivos para ECTS (o cuando los organismos indicadores alcancen un umbral predefinido). Véanse los *Principios y directrices para el establecimiento y la aplicación de criterios microbiológicos relativos a los alimentos* (CXG 21-1997).

5.6 Documentación y registros

34. Se recomienda que los registros relativos a la cosecha, elaboración, producción y distribución se conserven durante el tiempo suficiente para facilitar la investigación de enfermedades causadas por ECTS y la retirada del mercado de los productos, si fuera necesario. Este período puede ser significativamente más largo que la duración en almacén de las hortalizas de hoja verde frescas. Véase la Sección 5.7 del *Código de prácticas de higiene para las frutas y hortalizas frescas* (CXC 53-2003), donde se mencionan los tipos de registros que deberían mantener los productores, cosechadores y envasadores y que podrían ser importantes a la hora de investigar brotes de enfermedades transmitidas por los alimentos debido a ECTS.

6. ESTABLECIMIENTO: MANTENIMIENTO Y SANEAMIENTO

35. Véanse los *Principios generales de higiene de los alimentos* (CXC 1-1969) y el *Código de prácticas de higiene para las frutas y hortalizas frescas* (CXC 53-2003).

7. ESTABLECIMIENTO: HIGIENE PERSONAL

36. Véanse los *Principios generales de higiene de los alimentos* (CXC 1-1969).

8. TRANSPORTE

37. Véanse los *Principios generales de higiene de los alimentos* (CXC 1-1969), el *Código de prácticas de higiene para el transporte de alimentos a granel y alimentos semienvasados* (CXC 47-2001) y el *Código de prácticas para el envasado y transporte de frutas y hortalizas frescas* (CXC 44-1995).

9. INFORMACIÓN SOBRE LOS PRODUCTOS Y SENSIBILIZACIÓN DEL CONSUMIDOR

9.1 Identificación del lote

38. Véanse los *Principios generales de higiene de los alimentos* (CXC 1-1969).

9.2 Información sobre el producto

39. Véanse los *Principios generales de higiene de los alimentos* (CXC 1-1969).

9.3 Etiquetado

40. Véanse la *Norma general para el etiquetado de alimentos preenvasados* (CXC 1-1985) y el *Código de prácticas de higiene para las frutas y hortalizas frescas* (CXC 53-2003).

9.4 Educación de los consumidores

41. Véase el *Código de prácticas de higiene para las frutas y hortalizas frescas* (CXC 53-2003).

10. CAPACITACIÓN

42. Véanse los *Principios generales de higiene de los alimentos* (CXC 1-1969) y el *Código de prácticas de higiene para las frutas y hortalizas frescas* (CXC 53-2003).

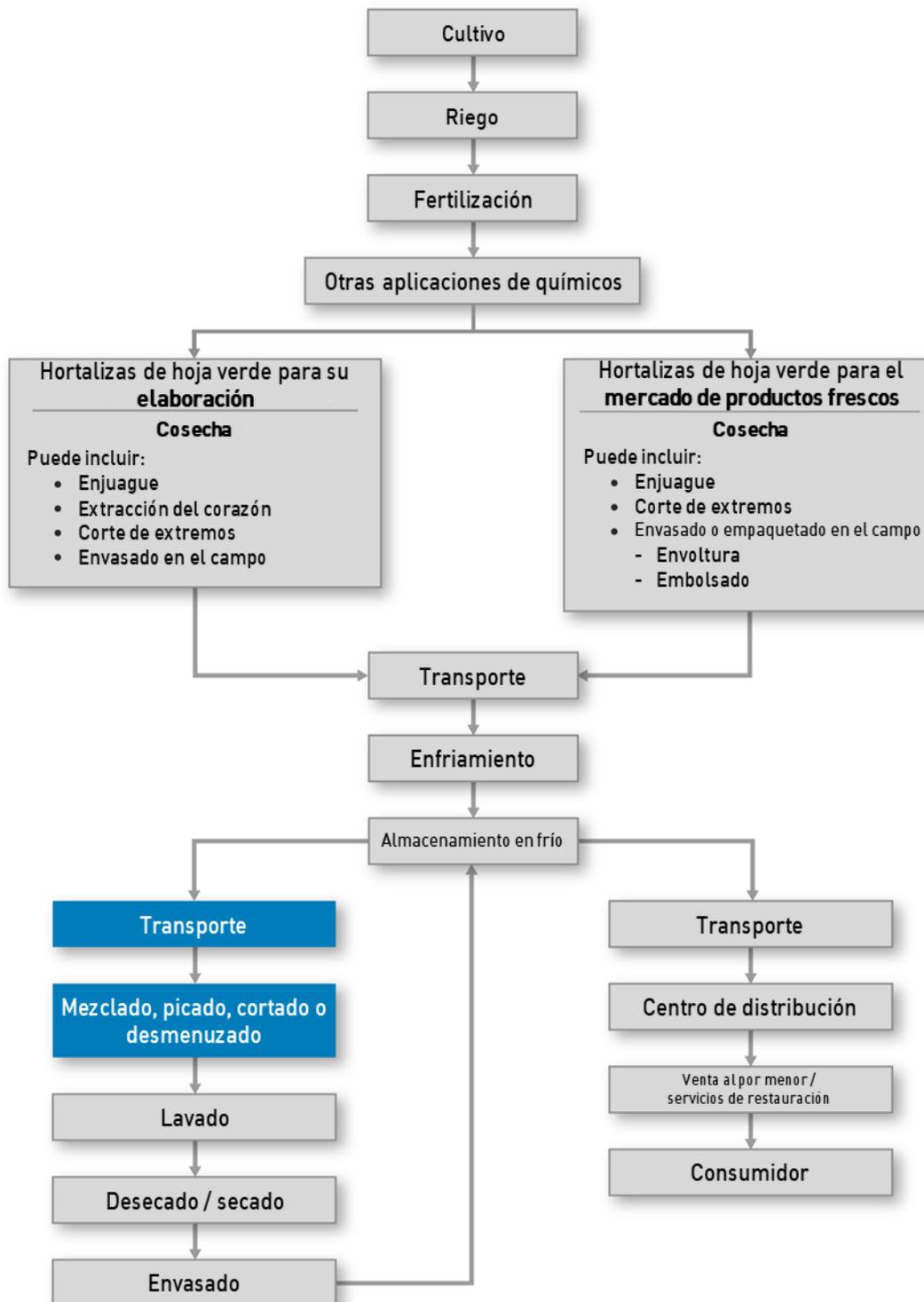
11. VENTA AL POR MENOR Y SERVICIOS DE ALIMENTACIÓN

43. Las hortalizas de hoja verde frescas (intactas y precortadas) deberían mantenerse a una temperatura que impida la proliferación de ECTS [es decir, 7°C o menos]. Se debería evitar la contaminación cruzada hacia otros alimentos o proveniente de ellos. Los operadores de empresas de alimentos que sirven hortalizas de hoja verde frescas a los consumidores para su consumo sin cocción deberían adoptar las medidas adecuadas para:

- Prevenir la contaminación cruzada;
- Mantener una temperatura de almacenamiento adecuada; y
- Asegurar una limpieza correcta de las herramientas y superficies que puedan entrar en contacto con estos productos.

12. CONSUMIDORES

44. Véase la Sección 9.4 del *Código de prácticas de higiene para las frutas y hortalizas frescas* (CXC 53-2003).

Figura 1: Diagrama de flujo para las hortalizas de hoja verde frescas¹⁴

¹⁴ Los recuadros azules indican pasos que pueden no estar incluidos, dependiendo en parte del producto.

Referencias proporcionadas (algunas no completas) para su uso por las JEMRA

Consideraciones generales

- Alegbeleye OO, Singleton I, Sant'Ana AS. 2018. Sources and contamination routes of microbial pathogens to fresh produce during field cultivation. A review. *Food Microbiol* 73:177–208. doi:10.1016/j.fm.2018.01.003
- California Leafy Green Products Handler Marketing Agreement (CA-LGMA). 2019. Commodity specific food safety guidelines for the production and harvest of lettuce and leafy greens. https://lgma-assets.sfo2.digitaloceanspaces.com/downloads/CA_LGMA_METRICS_FINAL_VERSION_Accessible_Jan2020.pdf.
- EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ) Panel; Scientific Opinion on the risk posed by pathogens in food of non-animal origin. Part 1 (outbreak data analysis and risk ranking of food/pathogen combinations). *EFSA Journal* 2013;11(1):3025. [138 pp.] doi:10.2903/j.efsa.2013.3025 (see section 3.5.2., p.42)
- FAO/WHO [Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization]. 2008. Microbiological hazards in fresh leafy vegetables and herbs: Meeting Report. Microbiological Risk Assessment Series No. 14. Rome. 151pp. (see Table A2.3)
- Julien-Javaux, F, Gerard, C, Campagnoli, M, Zuber, S. 2019. Strategies for the safety management of fresh produce from farm to fork. *Curr. Opin. Food Sci.* 18: 1727-1750. doi: 10.1016/j.cofs.2019.01.004
- Mogren, L, Windstam, S, Boqvist, S, Vågsholm, I, Söderqvist, K, Rosberg, AK, Lindén, J, Mulaosmanovic, E, Karlsson, M, Uhlig, E, Håkansson, A, Alsanus, B. 2018. The hurdle approach—A holistic concept for controlling food safety risks associated with pathogenic bacterial contamination of leafy green vegetables”, *Frontiers Microbiol.* 9: 1965.
- Olaimat, A N, Holley, R A 2012. Factors influencing the microbial safety of fresh produce: A review. *Food Microbiol*, 32:1– 19. doi: 10.1016/j.fm.2012.04.016

Brotos asociados a hortalizas de hoja verde frescas

- Acker, M-L. et al., 1998. An outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections associated with leaf lettuce consumption. *J Infect Dis.* 177(6):1588-1593.
- Bottichio L, Keaton A, Thomas D, Fulton T, Tiffany A, Frick A, Mattioli M, Kahler A, Murphy J, Otto M, Tesfai. 2019 A. Shiga Toxin-Producing *E. coli* Infections Associated with Romaine Lettuce—United States, 2018. *Clinical Infectious Diseases.* 2019 Dec 9. <https://doi.org/10.1093/cid/ciz1182>
- Carstens, Christina K ; Salazar, Joelle K ; Darkoh, Charles. 2019. Multistate Outbreaks of Foodborne Illness in the United States Associated with Fresh Produce From 2010 to 2017
Frontiers in Microbiology, Vol.10 <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02667>
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). 2006. Ongoing multistate outbreak of *Escherichia coli* serotype O157:H7 infections associated with consumption of fresh spinach—United States, September 2006. *Morb. Mortal. Wkly. Rep.* 55:1045–1046.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). 2012. Multistate outbreak of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 infections linked to organic spinach and spring mix blend (final update). 10 December. <https://www.cdc.gov/ecoli/2012/O157H7-11-12/index.html>
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). 2020. Outbreak of *E. coli* Infections Linked to Romaine Lettuce. Final Update. <https://www.cdc.gov/ecoli/2019/o157h7-11-19/>
- Gobin, Maya ; Hawker, Jeremy ; Cleary, Paul ; Inns, Thomas ; Gardiner, Daniel ; Mikhail, Amy ; McCormick, Jacquelyn ; Elson, Richard ; Ready, Derren ; Dallman, Tim ; Roddick, Iain ; Hall, Ian; Willis, Caroline ; Crook, Paul ; Godbole, Gauri ; Tubin-Delic, Drazenka ; Oliver, Isabel. 2018. National outbreak of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 linked to mixed salad leaves, United Kingdom, 2016. *Euro Surveill.* 2018 May 3; 23(18): 17-00197. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2018.23.18.17-00197
- Herman KM, Hall AJ, Gould LH. 2015. Outbreaks attributed to fresh leafy vegetables, United States, 1973-2012. *Epidemiol Infect.* 43:3011–3021. doi:10.1017/S0950268815000047
- Heiman KE, Mody RK, Johnson SD, Griffin PM, Gould LH. 2015. *Escherichia coli* O157 outbreaks in the United States, 2003–2012. *Emerging Infectious Diseases.* 21(8): 1293–1301. doi: 10.3201/eid2108.141364
- Hilborn, ED et al. 1999; A Multistate Outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 Infections Associated with Consumption of Mesclun Lettuce. *Arch. Intern. Med.* 159: 1758-1764.
- Jay MT, Cooley M, Carychao D, Wiscomb GW, Sweitzer RA, Crawford-Miksza L, Farrar JA, Lau DK, O'Connell J, Millington A, Asmundson RV. *Escherichia coli* O157: H7 in feral swine near spinach fields and cattle, central California coast. *Emerging infectious diseases.* 2007 Dec;13(12):1908 - 1911. doi: 10.3201/eid1312.070763

Jenkins C, Dallman TJ, Launders N, Willis C, Byrne L, Jorgensen F, Eppinger M, Adak GK, Aird H, Elviss N, Grant KA, Morgan D, McLauchlin J. 2015. Public health investigation of two outbreaks of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157 associated with consumption of watercress. *Appl Environ Microbiol* 81:3946–3952. <http://dx.doi.org/10.1128/AEM.04188-14>.

Kinnula, S., K. Hemminki, H. Kotilainen, E. Ruotsalainen, E. Tarkka, S. Salmenlinna, S. Hallanvuo, E. Leinonen, O. Jukka, and R. Rimhanen-Finne. 2018. Outbreak of multiple strains of non-O157 Shiga toxin-producing and enteropathogenic *Escherichia coli* associated with rocket salad, Finland, autumn 2016. *Euro Surveill.* 23:1700666. doi: [10.2807/1560-7917.ES.2018.23.35.1700666](https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2018.23.35.1700666)

Kintz, Erica ; Byrne, Lisa ; Jenkins, Claire ; Mccarthy, Noel ; Vivancos, Roberto ; Hunter, Paul. 2019. Outbreaks of Shiga Toxin–Producing *Escherichia coli* Linked to Sprouted Seeds, Salad, and Leafy Greens: A Systematic Review. *J. Food Protect.* 82: 1950–1958 <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-19-014>

Launders, N., L. Byrne, N. Adams, K. Glen, C. Jenkins, D. Tubin- Delic, M. Locking, C. Williams, D. Morgan, on behalf of the Outbreak Control Team. 2013. Outbreak of Shiga toxin-producing *E. coli* O157 associated with consumption of watercress, United Kingdom, August to September 2013. *Euro Surveill.* 18:20624 <https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/1560-7917.ES2013.18.44.20624>

Luna-Gierke RE, Griffin PM, Gould LH, Herman K, Bopp CA, Strockbine N, Mody RK. Outbreaks of non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infection: USA. *Epidemiology & Infection.* 2014 Nov;142(11):2270-80.

Marder, E.P., Katie N. Garman, Lily Amanda Ingram, and John R. Dunn. 2014. Multistate Outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 Associated with Bagged Salad. *Foodborne Pathogens and Disease.* Vol. 11, No. 8 pp.593-595. <http://doi.org/10.1089/fpd.2013.1726>

Mikhail, A F W ; Jenkins, C ; Dallman, T J ; Inns, T ; Douglas, A ; Martín, A I C ; Fox, A ; Cleary, P ; Elson, R ; Hawker, J. An outbreak of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 associated with contaminated salad leaves: epidemiological, genomic and food trace back investigations

Epidemiology and infection, January 2018, Vol.146(2), pp.187-196
DOI: <https://doi.org/10.1017/S0950268817002874>

Sharapov UM, Wendel AM, Davis JP, Keene WE, Farrar J, Sodha S, Hyytia-Trees E, Leeper M, Gerner-Smidt P, Griffin PM, Braden C. 2016. Multistate outbreak of *Escherichia coli* O157: H7 infections associated with consumption of fresh spinach: United States, 2006. *Journal of Food Protection.* Dec;79(12):2024-30. doi:10.4315/0362-028X

Slayton, Rachel B; George Turabelidze ; Sarah D Bennett ; Colin A Schwensohn ; Anna Q Yaffee ; Faisal Khan ; Cindy Butler ; Eija Trees ; Tracy L Ayers ; Marjorie L Davis ; Alison S Laufer ; Stephen Gladbach ; Ian Williams ; Laura B Gieraltowski. 2013. Outbreak of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) O157:H7 associated with romaine lettuce consumption, 2011. *PLoS ONE*, 01 January 2013, Vol.8(2), p.e55300 doi: [10.1371/journal.pone.0055300](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0055300)

Taylor, E. V., Nguyen, T. A., Machesky, K. D., Koch, E., Sotir, M. J., Bohm, S. R., ... & Emanuel, A. (2013). Multistate outbreak of *Escherichia coli* O145 infections associated with romaine lettuce consumption, 2010. *Journal of food protection*, 76(6), 939-944

Turner, K, , Moua, CH, Hajmeer, M, Barnes, A, , Needham, M. 2019. Overview of leafy greens–related food safety incidents with a California link: 1996 to 2016. *J Food Prot* 82: 405–414. Doi: 10.4315/0362-028X.JFP-18-316

Producción primaria como fuente de la mayor parte de la contaminación de hortalizas de hoja verde frescas con ECTS

Callahan, M. T., Micallef, S. A., Sharma, M., Millner, P. D., & Buchanan, R. L. (2016). Metrics proposed to prevent the harvest of leafy green crops exposed to floodwater contaminated with *Escherichia coli*. *Applied and environmental microbiology*, 82(13), 3746-3753.

Monaghan, JM, Augustin, JC, Bassett, J, Betts, R, Pourkomailian, B, Zwietering, MH. 2016. Risk assessment or assessment of risk? Developing an evidence-based approach for primary producers of leafy vegetables to assess and manage microbial risks. *J Food Protec.* 80: 725-733. doi: 10.4315/0362-028X.JFP-16-237.

Zonas de riesgo de contaminación por ECTS de las hortalizas de hoja verde frescas, incluida la procedente del agua y de los animales domésticos y silvestres

Ceupens *et al.* (2014) Microbiological quality and safety assessment of lettuce production in Brazil. *International Journal of Food Microbiology* 181 (2014) 67–76.

Cooley M, Carychao D, Crawford-Miksza L, Jay MT, Myers C, Rose C, Keys C, Farrar J, Mandrell RE. Incidence and tracking of *Escherichia coli* O157: H7 in a major produce production region in California. *PloS one.* 2007;2(11).

Gelting, R. J., M. A. Baloch, M. A. Zarate-Bermudez, and C. Selman. 2011. Irrigation water issues potentially related to the 2006 multistate *E. coli* O157:H7 outbreak associated with spinach. *Agric. Water Manag.* 98:1395–1402

Decol *et al.*, (2017) Microbial quality of irrigation water used in leafy green production in Southern Brazil and its relationship with produce safety. *Food Microbiology* 65 (2017) 105e113.

Elias *et al.*, (2019) *Salmonella* spp. and *Escherichia coli* O157:H7 prevalence and levels on lettuce: A systematic review and meta-analysis. *Food Microbiology* 84:103217

Jay, M.T. *et al.*, 2007. *Escherichia coli* O157:H7 in feral swine near spinach fields and cattle, Central California Coast. *Emerging Infectious Disease* 13(12): 1908–1911.

Luna-Guevara, J.J., M. M. P Arenas-Hernandez, C. Martiniz de la Peña, Juan L. Silva, and M. L. Luna-Guevara (2019): The Role of Pathogenic *E. coli* in Fresh Vegetables: Behavior, Contamination Factors, and Preventive Measures. *International Journal of Microbiology*. <https://doi.org/10.1155/2019/2894328>

Rodrigues *et al.*, (2014) Microbiological contamination linked to implementation of good agricultural practices in the production of organic lettuce in Southern Brazil. *Food Control* 42 (2014) 152-164.

Soderqvist K., Rosberg AK., Boqvist S., Alsanius B., Mogren L., Vagsholm I (2019): Season and Species: Two Possible Hurdles for Reducing the Food Safety Risk of *Escherichia coli* O157 Contamination of Leafy Vegetables. *J Food Prot* 82 (2): 247–255. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-18-292>

Soderstrom, A., P. Osterberg, A. Lindqvist, B. Jonsson, A. Lindberg, S. Blide Ulander, C. Welinder-Olsson, S. Lofdahl, B. Kaijser, B. De Jong, S. Kuhlmann-Berenzon, S. Boqvist, E. Eriksson, E. Szanto, S. Andersson, G. Allestam, I. Hedenstrom, L. Ledet Muller, and Y. Andersson. 2008. A large *Escherichia coli* O157 outbreak in Sweden associated with locally produced lettuce. *Foodborne Pathog. Dis.* 5:339–349

Steele, M. y J. Odumeru. 2004. Irrigation Water as Source of Foodborne Pathogens on Fruit and Vegetables. *Journal of Food Protection* 67(12): 2839–2849

Estiércol, estiércol de compostaje

Alegbeleye, O. O., y Sant'Ana, A. S. (2020). Manure-borne pathogens as an important source of water contamination: An update on the dynamics of pathogen survival/transport as well as practical risk mitigation strategies. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 227, 113524.

Franz, E, Semenov, AV, Van Bruggen, AHC. 2004. Modelling the contamination of lettuce with *Escherichia coli* O157: H7 from manure-amended soil and the effect of intervention strategies. *J. Appl. Microbiol.* 105:1569–1584. doi: 10.1111/j.1365-2672.2008.03915.x

Gonçalves, V.P. y J.M. Marin (2007): Fate of non O157 Shiga toxigenic *Escherichia coli* in composted cattle manure. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* vol.59 no.4. Available On-line at < <https://doi.org/10.1590/S0102-09352007000400001>>

Gurtler JB., Doyle MP., Erickson MC., Jiang X., Millner P., Sharma M. (2018): Composting to Inactivate Foodborne Pathogens for Crop Soil Application: A Review. *J Food Prot.* 81(11): 1821–1837.

Islam, M, Doyle, MP, Phatak, SC, Millner, P, Jiang, X. 2004. Persistence of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in soil and on leaf lettuce and parsley grown in fields treated with contaminated manure composts or irrigation water. *J. Food Prot.* 67:1365–1370. doi: 10.4315/0362-028X-67.7.1365

Martens, W., y Böhm, R. (2009). Overview of the ability of different treatment methods for liquid and solid manure to inactivate pathogens. *Bioresource technology*, 100(22), 5374-5378.

Rigobelo, EC, MC Cardozo, FA de Avila, and PJ Blackall (2016): An evaluation of the use of probiotics and manure composting as strategies to reduce levels of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in sheep. *African journal of microbiology research* 10(26):1011-1017 DOI: [10.5897/AJMR2016.8034](https://doi.org/10.5897/AJMR2016.8034)

Weller, D. L., Kovac, J., Kent, D. J., Roof, S., Tokman, J. I., Mudrak, E., & Wiedmann, M. (2019). A Conceptual Framework for Developing Recommendations for No-Harvest Buffers around In-Field Feces. *Journal of Food Protection*, 82(6), 1052-1060.

Agua

Cooley MB, Quiñones B, Oryang D, Mandrell RE, Gorski L. 2014. Prevalence of shiga toxin producing *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, and *Listeria monocytogenes* at public access watershed sites in a California Central Coast agricultural region. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 4:30. Mar 4, 2014

Jongman, M, Korsten, L. 2018. Irrigation water quality and microbial safety of leafy greens in different vegetable production systems: A review. *Food Rev. Int.* 34:308–328. doi: 10.1080/87559129.2017.1289385

Animales

Berry, ED, Wells, JE, Bono, JL, Woodbury, BL, Kalchayanand, N, Norman, KN, Suslow, TV, Lopez-Velasco, G, Millner, P. 2015. Effect of proximity to a cattle feedlot on *Escherichia coli* O157:H7 contamination of leafy greens and evaluation of the potential for airborne transmission. *Appl. Environ. Microbiol.* 81:1101-1110. doi: 10.1128/AEM.02998-14

Cooley, *et al.* (2007) Incidence and tracking of *Escherichia coli* O157: H7 in a major produce production region in California. *PLoS One* 2: e1159: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2174234/>

FDA, 2020. Factors Potentially Contributing to the Contamination of Romaine Lettuce Implicated in the Three Outbreaks of *E. coli* O157:H7 During the Fall of 2019. <https://www.fda.gov/food/outbreaks-foodborne-illness/factors-potentially-contributing-contamination-romaine-lettuce-implicated-three-outbreaks-e-coli>

Jay, *et al.* (2007) *Escherichia coli* O157: H7 in feral swine near spinach fields and cattle, central California coast. *Emerg Infect Dis* 13: 1908–191: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2876768/1;>

Jay-Russell MT, Hake AF, Bengson Y, Thiptara A, Nguyen T. Prevalence and characterization of *Escherichia coli* and *Salmonella* strains isolated from stray dog and coyote feces in a major leafy greens production region at the United States-Mexico border. *PloS one.* 2014;9(11).

Jeamsripong, S, Chase, JA, Jay-Russell, MT, Buchanan, RL, Atwill, ER. 2019. Experimental in-field transfer and survival of *Escherichia coli* from animal feces to romaine lettuce in Salinas Valley, California. *Microorganisms*.7: 408. doi: 10.3390/microorganisms7100408.

Persad AK, Lejeune JT.. 2015. Animal reservoirs of Shiga toxin-producing *Escherichia coli*. In Sperandio V, Hovde C (ed), *Enterohemorrhagic Escherichia coli* and other Shiga toxin-producing *E. coli*. ASM Press, Washington, DC. doi:10.1128/microbiolspec.EHEC-0027-2014.

Yanamala, S., Miller, M. F., Loneragan, G. H., Gragg, S. E., y Brashears, M. M. (2011). Potential for microbial contamination of spinach through feedyard air/dust growing in close proximity to cattle feedyard operations. *Journal of Food Safety*, 31(4), 525-529.

Biocidas en el agua de lavado

Gombas, D., Luo, Y., Brennan, J., Shergill, G., Petran, R., Walsh, R., y Varley, R. (2017). Guidelines to validate control of cross-contamination during washing of fresh-cut leafy vegetables. *Journal of Food Protection*, 80(2), 312-330.

Keskinen, L. A., Burke, A., y Annous, B. A. (2009). Efficacy of chlorine, acidic electrolyzed water and aqueous chlorine dioxide solutions to decontaminate *Escherichia coli* O157: H7 from lettuce leaves. *International journal of food microbiology*, 132(2-3), 134-140.

López-Gálvez, Francisco, Juan A. Tudela, Ana Allende, Maria I. Gil. Microbial and chemical characterization of commercial washing lines of fresh produce highlights the need for process water control. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, Volume 51,211-219, January 2019.

Luo, Y., Nou, X., Millner, P., Zhou, B., Shen, C., Yang, Y., y Shelton, D. (2012). A pilot plant scale evaluation of a new process aid for enhancing chlorine efficacy against pathogen survival and cross-contamination during produce wash. *International Journal of Food Microbiology*, 158(2), 133-139.

Nou, X., Luo, Y., Hollar, L., Yang, Y., Feng, H., Millner, P., y Shelton, D. (2011). Chlorine stabilizer T-128 enhances efficacy of chlorine against cross-contamination by *E. coli* O157: H7 and *Salmonella* in fresh-cut lettuce processing. *Journal of Food Science*, 76(3), M218-M224.

Tudela, Juan A., Francisco López-Gálvez, Ana Allende, Natalia Hernández, Silvia Andújar, Alicia Marín, Yolanda Garrido, Maria I. Gil. Operational limits of sodium hypochlorite for different fresh produce wash water based on microbial inactivation and disinfection by-products (DBPs). *Food Control*, 104, 300-307, 2019(a).

Tudela, Juan A., Francisco López-Gálvez, Ana Allende, María I. Gil. Chlorination management in commercial fresh produce processing lines. *Food Control*, 106, 10760, 2019(b).

Zhang, G., Ma, L., Phelan, V. H., y Doyle, M. P. (2009). Efficacy of antimicrobial agents in lettuce leaf processing water for control of *Escherichia coli* O157: H7. *Journal of food protection*, 72(7), 1392-1397.

ANEXO 3: LECHE CRUDA Y QUESOS A BASE DE LECHE CRUDA

MEDIDAS ESPECÍFICAS DE CONTROL PARA LA LECHE CRUDA Y LOS QUESOS A BASE DE LECHE CRUDA

1. INTRODUCCIÓN

1. Aunque la mayor parte de la leche para beber está pasteurizada o esterilizada por UHT, en muchos países se consumen productos lácteos procedentes de leche cruda. Los quesos a base de leche cruda son productos fermentados elaborados a partir de leche cruda que se consumen en diversos países del mundo. Producen este queso tanto grandes productores como pequeñas fábricas, tales como los productores de queso de granja, los productores de queso artesanal o los queseros industriales. Los fabricantes utilizan combinaciones específicas de ingredientes y tecnologías para obtener una amplia variedad de quesos con las características deseadas y satisfacer las expectativas de los consumidores.

2. Se ha relacionado la leche cruda y los quesos a base de leche cruda con infecciones de transmisión alimentaria asociadas con la *Escherichia coli* productora de toxina Shiga (ECTS) en personas de diferentes países (FAO/OMS, 2019; Baylis, 2009; Perrin *et al.*, 2015; Honish *et al.*, 2005; Espie *et al.*, 2006; Mungai *et al.*, 2015, Currie *et al.*, 2018; Treacy *et al.*, 2019.). Para reducir la presencia de ECTS en estos productos, es necesario utilizar un enfoque integral que tenga en cuenta todos los aspectos de la producción y el consumo de leche cruda y de queso a base de leche cruda

3. El ganado bovino es el principal reservorio de ECTS (Karmali *et al.*, 2010; Salaheen *et al.*, 2019 Rhades *et al.*, 2019). Los bovinos infectados pueden llevar la bacteria en el tracto gastrointestinal sin presentar ningún síntoma de enfermedad y excretarla en las heces (Chapman *et al.*, 2001; Sarimehmetoglu *et al.*, 2009; Brown *et al.*, 1997). También se ha aislado ECTS en las heces de otras especies animales, como búfalos, cabras y ovejas, que se ordeñan habitualmente para el consumo humano (Vu-Khac *et al.*, 2008; McCarthy *et al.*, 2019; Álvarez-Suárez *et al.*, 2019). Algunas investigaciones detalladas han demostrado que, si no se respetan los pasos de limpieza y las prácticas de higiene adecuadas de las ubres, la materia fecal puede contaminar los pezones y las ubres de la vaca, lo que a su vez puede contaminar la leche durante el proceso de ordeño (Ruegg, 2003). Por este motivo, la ECTS se puede encontrar en la leche cruda. Cuando se utiliza la leche contaminada con ECTS para producir quesos a base de leche cruda, la ECTS puede sobrevivir y se puede aislar en algunos quesos a base de leche cruda resultantes.

4. Se reconoce que algunas de las disposiciones del presente anexo pueden ser difíciles de aplicar en zonas en las que la producción primaria (producción de leche) y la elaboración (a veces tradicional) se realizan en establecimientos pequeños. También es importante destacar que este documento está destinado a su uso por una amplia gama de operadores que utilizan diversos sistemas de explotación en la granja y de elaboración de productos lácteos. Por lo tanto, este anexo es intencionalmente flexible, a fin de dar cabida a diferentes sistemas de control y prevención de la contaminación para distintas prácticas culturales y diferentes prácticas y condiciones de elaboración.

5. Esta orientación describe el seguimiento y las buenas prácticas que pueden contribuir al control de la ECTS en la leche cruda y los quesos a base de leche cruda en diferentes etapas de la cadena de producción y que, cuando se aplican correctamente, pueden contribuir a reducir el riesgo de contaminación y la consiguiente enfermedad. Según los datos publicados, la eficacia de las intervenciones de las diferentes prácticas de producción en el control de la ECTS es variable. Esto se debe a las importantes diferencias en la práctica de diseño experimental y de fabricación entre los diferentes estudios. Concretamente, aún no se ha cuantificado la eficacia de las medidas de control en múltiples pasos de la cadena alimentaria sobre la reducción global de ECTS en la leche cruda y los quesos a base de leche cruda. En consecuencia, corresponderá a las autoridades competentes y a cada operador (ganadero o explotador lechero) o a la industria quesera definir las medidas de vigilancia y control adecuadas basadas en el riesgo, teniendo en cuenta la información científica y técnica pertinente.

2. OBJETIVO

6. El objetivo de este anexo es proporcionar orientación con base científica para el control de la ECTS relacionada con la leche cruda para beber y los quesos a base de leche cruda. Esta orientación se centra en el control de la ECTS durante la producción de leche cruda (vacas, búfalos, cabras y ovejas), la elaboración de queso a base de leche cruda, su almacenamiento, distribución y uso por parte de los consumidores de estos productos.

3. ÁMBITO DE APLICACIÓN Y DEFINICIONES

3.1. Ámbito de aplicación

7. Este anexo presenta orientación específica para el control de la ECTS relacionada con la leche cruda destinada a su consumo como bebida y los quesos a base de leche cruda.

3.2. Definiciones

8. Véase la *Norma general del para el uso de términos lecheros* (CXS 206-1999) y el *Código de prácticas de higiene para la leche y los productos lácteos* (CXC 57-2004), en su Anexo I (Directrices para la producción primaria de leche) y Anexo II (Directrices para la gestión de las medidas de control durante la elaboración y después de la misma). Véanse también los *Principios generales de higiene de los alimentos* (CXC 1-1969).

- Leche: la leche es la secreción mamaria normal de animales lecheros obtenida mediante uno o más ordeños sin ningún tipo de adición o extracción, destinada al consumo en forma de leche líquida o a elaboración ulterior¹⁵.
- Leche cruda: leche (según la definición de la *Norma general del Codex para el uso de términos lecheros* (CXS 206-1999)) destinada al consumo directo o a su uso como insumo primario de productos lácteos, que no se ha calentado a más de 40 °C ni se ha sometido a ningún tratamiento que tenga un efecto equivalente¹⁶. Esta definición excluye las técnicas de elaboración utilizadas para el control microbiológico (por ejemplo, el tratamiento térmico por encima de 40 °C, así como la microfiltración y la bactofugación que provocan una disminución de la microbiota equivalente al calentamiento).
- Quesos a base de leche cruda: quesos producidos con leche cruda.
- Validación: La obtención de pruebas que demuestren que una medida de control o una combinación de medidas de control, si se aplica debidamente, es capaz de controlar el peligro con un resultado especificado¹⁷.
- Vigilancia: El acto de ejecutar una secuencia planeada de observaciones o de mediciones de parámetros de control para evaluar si una medida de control se encuentra o no bajo control¹⁸.
- Verificación: La aplicación de métodos, procedimientos, ensayos y otras evaluaciones, además de la vigilancia, para determinar si una medida de control funciona está o ha estado funcionando de la manera prevista¹⁸.

4. ENFOQUE PARA LAS MEDIDAS DE CONTROL DESDE LA PRODUCCIÓN PRIMARIA HASTA EL CONSUMO

9. Las figuras 1 y 2 muestran diagramas de flujo que describen los pasos clave de la producción de leche cruda y de los quesos a base de leche cruda. No todos los pasos se producen en todas las operaciones, puede haber otros pasos y los pasos pueden darse en un orden diferente al que se muestra en las figuras.

10. La leche cruda puede ser una fuente potencial de patógenos microbianos, entre otros, de ECTS. Es de gran importancia velar por la calidad sanitaria de la leche cruda, que no se somete a un tratamiento de reducción microbiana antes de su embotellamiento para su consumo como bebida o antes de la elaboración del queso.

11. La aplicación de medidas de control combinadas a lo largo de la cadena alimentaria es necesaria para el control de ECTS en los productos finales. Sin embargo, estas medidas y diagramas de flujo pueden variar en función de las diferentes prácticas de las granjas lecheras y de los procesos de elaboración del queso.

5. PRODUCCIÓN PRIMARIA – PRODUCCIÓN DE LECHE EN UNA GRANJA LECHERA

5.1. ECTS en la granja lechera

5.1.1. Conocimiento científico

12. La contaminación por ECTS en la granja: Los bovinos sanos y otros rumiantes suelen ser portadores de ECTS y excretarla. (Karmali *et al.*, 2010; Salaheen *et al.*, 2019; Rhades *et al.*, 2019) (véanse datos adicionales en el anexo sobre la carne de bovino cruda). La mayoría de los datos disponibles se refieren al ganado bovino.

¹⁵ *Norma general del Codex para el uso de términos lecheros* (CXS 206-1999).

¹⁶ La cuajada de queso se puede “cocer” con fines técnicos (es decir, mediante la aplicación de calor a temperaturas inferiores a 40 °C para expulsar el agua de la cuajada). El calor somete a tensión a los microorganismos, haciéndolos más sensibles a otras medidas de control microbiológico. *Código de prácticas de higiene para la leche y los productos lácteos* (CXC 57-2004), Anexo II, Apéndice B, pág. 47.

¹⁷ *Directrices para la validación de medidas de control de la inocuidad de los alimentos* (CXG 69-2008).

Sin embargo, se han publicado varios artículos científicos sobre la presencia de ECTS en cabras, ovejas y búfalos, así como en el entorno de estas explotaciones (Jacob *et al.*, 2013; Otero *et al.*, 2017; Vu-Khac *et al.*, 2008). La transmisión entre animales por vía fecal-oral es una forma de contaminación probable de ECTS dentro del rebaño (Chase-Topping *et al.*, 2008). Además, la introducción de animales recién adquiridos puede suponer una importante entrada de una nueva fuente de ECTS (Sanderson *et al.*, 2006; Ellis-Iversen *et al.*, 2008). También se ha demostrado la transmisión ambiental debido a las malas condiciones de estabulación o al largo periodo de supervivencia de la ECTS (potencialmente más de un año) en los efluentes y el entorno (suelo, plantas, cultivos, grano y agua) (Jang *et al.*, 2017; Nyberg *et al.*, 2019; Haymaker *et al.*, 2019). También es posible que los pastos mantengan una circulación bacteriana por las heces directas depositadas en el suelo o la propagación del efluente (Fremaux *et al.*, 2008; Jang *et al.*, 2017; Nyberg *et al.*, 2019). En las explotaciones, existen riesgos muy diversos de contaminación por ECTS e incluyen numerosos factores, como el estado de salud de los animales, la edad de los mismos, la fase de lactancia, la geografía, el clima, la exposición a la fauna silvestre y las prácticas de la explotación. Otros factores (como una limpieza profunda en el establo y el sacrificio selectivo) se asociaron con una menor detección de *stx* (gen) en la leche. Otros animales silvestres o el ganado, las plagas y las aves también pueden ser portadores de ECTS y contribuir así a su difusión entre el ganado (Berry *et al.*, 2010; Puri-Giri *et al.*, 2017). Estos factores ambientales y las características de la ecología de la ECTS indican que las estrategias de control basadas en impedir que la ECTS acceda a sus huéspedes o al hábitat serán muy difíciles de aplicar de manera que se evite de forma fiable la exposición de los rumiantes a la ECTS.

13. Pienso y agua para beber: La contaminación del pienso con ECTS es poco habitual (Berry y Wells, 2010). Sin embargo, el agua (aguas superficiales, agua de tejados, agua para beber contaminada) pueden contribuir a introducir o difundir la ECTS, después de una contaminación directa o indirecta (Schets *et al.*, 2005; Lascowski *et al.*, 2013; Saxena *et al.*, 2015).

14. La excreción de ECTS por los rumiantes lecheros: Los rumiantes son el principal reservorio de ECTS. Una investigación (Hussein y Sakuma, 2005) indicó que existen una amplia variedad de estimaciones para la prevalencia de portadores sanos de ECTS en el ganado bovino lechero. Diferentes estudios han señalado la prevalencia en las heces, que varía mucho en función de factores relacionados con el animal, la ubicación geográfica y el tipo de producción (Karmali *et al.*, 2010; Salaheen *et al.*, 2019; Rhades *et al.*, 2019). Algunos estudios han indicado que las ovejas y las cabras también son portadoras asintomáticas de ECTS (Schilling *et al.*, 2012; Pinaka *et al.*, 2013; Bosilevac *et al.*, 2015; Vu-Khac *et al.*, 2008; Zaheri *et al.*, 2020).

15. La excreción de ECTS por parte de los rumiantes parece ser esporádica, pero también puede ser persistente a lo largo de varios meses (Rahn *et al.*, 1997; Widiashi *et al.*, 2004). Ciertos estudios han demostrado que la excreción varía según la estación del año, con un máximo en los meses más cálidos (Berry y Wells, 2010; Jaakkonen *et al.*, 2019). La excreción varía también entre las distintas vacas y algunos individuos se consideran "altamente excretores" (con un alto nivel de excreción de ECTS) (Chase-Topping *et al.*, 2008), y los niveles de excreción pueden incluso diferir entre los excrementos de un mismo animal (Berry y Wells, 2010). Otros factores que se ha sugerido que contribuyen a los cambios en la excreción de ECTS son la edad, la dieta, la estabulación, el estrés, el tamaño del rebaño, la salud de los animales, el área geográfica y la contaminación previa con cepas de ECTS. La contaminación fecal de las leches de oveja y cabra existe, pero es menos probable que en el caso de las vacas, ya que sus heces tienden a ser más sólidas y, por tanto, es menos probable que se produzca fácilmente la contaminación cruzada (Otero *et al.*, 2017).

5.1.2. Medidas de control de la ECTS en la granja lechera

16. No se ha demostrado que existan intervenciones que sean sistemáticamente eficaces para reducir o eliminar la ECTS del intestino de los rumiantes de manera significativa. Además, no se proponen intervenciones específicas para los pequeños rumiantes. Deberían aplicarse medidas de control para minimizar la propagación entre los animales y su entorno. Estos son algunos ejemplos de medidas que pueden ser útiles:

- Mantener sanos a los animales y, cuando sea posible, minimizar su estrés.
- Mantener el lecho y la cama lo más secos posible.
- Aplicar prácticas de control de plagas.
- Si es posible, limitar el contacto fecal con los animales recién nacidos o jóvenes.
- Mantener el ganado joven en los mismos grupos durante todo el periodo de cría sin introducir animales nuevos.
- Aplicar prácticas de higiene para la gestión del estiércol y los purines, manteniendo los intervalos necesarios entre su esparcimiento en los pastos y la reintroducción de los animales para el pastoreo (Fremaux *et al.*, 2008).

17. Como se ha señalado, la contaminación del pienso por ECTS es poco frecuente. Su presencia se puede minimizar mediante la aplicación de buenas prácticas de fabricación y una gestión adecuada del estiércol y los purines cuando el pienso se produce en la explotación (*Código de prácticas sobre buena alimentación animal* (CXC 54-2004)). Es importante almacenar los piensos de forma segura para evitar su contaminación por ECTS a través del agua de escorrentía, las plagas y las aves. Además, es importante limitar la contaminación del agua para abreviar a los animales mediante un mantenimiento adecuado de los abrevaderos (LeJeune *et al.*, 2001).

5.2. La ECTS durante la preparación de los animales para el ordeño, el ordeño y el posterior traslado de la leche a los contenedores/tanques a granel

5.2.1. Conocimiento científico

18. La ECTS suele estar presente en la microbiota de los animales productores de leche, y no es posible erradicarla. No existen métodos establecidos para evitar que los animales sean portadores de ECTS ni para lograr la reducción de su excreción por parte de los rumiantes. La principal vía de contaminación de la leche cruda es de origen fecal (directa o indirectamente). Esto, a su vez, ensucia los pezones y, en consecuencia, la leche se puede contaminar posteriormente durante el proceso de ordeño. Por lo tanto, limitar la contaminación fecal durante el ordeño es un elemento clave para gestionar la ECTS en la explotación (Farrokh *et al.*, 2013).

5.2.2. Medidas de control específicas durante la preparación de los animales para el ordeño, el ordeño y el posterior traslado de la leche a los recipientes/tanques a granel

19. La aplicación de medidas de control tiene como objetivo principal evitar la contaminación de la leche cruda con ECTS durante el ordeño y el almacenamiento de la leche en la explotación. Para ello es importante aplicar buenas prácticas de higiene durante el ordeño, mantener limpios a los animales y reducir la contaminación cruzada con las heces.

20. Reducir la contaminación fecal antes del ordeño y mientras se realiza:

- Gestionar un entorno limpio e higiénico para los animales de ordeño a fin de reducir la contaminación fecal. Por ejemplo, se debería limpiar la zona donde se va a realizar el ordeño.
- Limpiar y desinfectar todos los materiales, utensilios y equipos de ordeño.
- Las ubres y los pezones se deberían limpiar adecuadamente antes del proceso de ordeño para minimizar el riesgo de contaminación de la leche con ECTS.
- En caso de ordeño manual, además de las ubres y los pezones, se deberían limpiar adecuadamente las manos del operario.

21. Las ECTS también pueden persistir en el equipo de ordeño y en las tuberías si no se limpian adecuadamente (Anexo I, Directrices para la producción primaria de leche, del documento CXC 57-2004). La limpieza es más difícil si el equipo no está bien diseñado para ella o no está bien mantenido. La ECTS pueden formar biopelículas en las máquinas de ordeño si están mal diseñadas o si su mantenimiento o su limpieza no son adecuados. Ciertos estudios han demostrado la formación de biopelículas de ECTS, tanto por O157:H7 como por otras cepas, con una tolerancia mayor a los desinfectantes que se utilizan habitualmente en el entorno de elaboración de alimentos (Wang *et al.*, 2012). Se debería limpiar y desinfectar a fondo antes de cada uso todo el equipo que pueda entrar en contacto con los pezones de los animales de ordeño y con la leche durante su extracción, como los cubos de recogida de leche. La calidad higiénica del agua utilizada para el último enjuague es muy importante para evitar la contaminación de la máquina de ordeño (Schets *et al.*, 2005; Lascowski *et al.*, 2013) (CXC 57-2004). De conformidad con los *Principios generales de higiene de los alimentos* (CXC 1-1969), únicamente se debería utilizar agua apta para su uso (es decir, que no contamine la leche). Si se utiliza agua reciclada, se debería tratar y mantener en condiciones que garanticen que su uso no afecta a la inocuidad de la leche (CXC 57-2004). También podría utilizarse agua de pozo que se analice regularmente para detectar indicadores o ECTS.

22. Si es necesario, aplicar a la máquina de ordeño un tratamiento a base de ácido, a ser posible durante la desinfección del equipo o después de ella (Trzaskowska *et al.*, 2018; Sabillon *et al.*, 2020).

6. CONTROLES DURANTE LA EXTRACCIÓN, EL ALMACENAMIENTO Y EL TRANSPORTE DE LA LECHE

23. Si la leche se elabora inmediatamente después del ordeño, no es necesario someterla a enfriamiento.

24. Se debería limpiar y desinfectar a fondo antes de cada uso todo el equipo que pueda entrar en contacto con la leche, como los tubos y conductos utilizados para transferir la leche a recipientes más grandes, las bombas, las válvulas, los recipientes y tanques de almacenamiento, etc. Aunque no es una práctica estándar,

se ha demostrado que un enfoque que contemple la limpieza completa de la cisterna *in situ* cada 24 horas, con un enjuague de agua entre cada carga, acompañado o no de un tratamiento de desinfección, reduce la presencia de bacterias superficiales en la cisterna y, por lo tanto, puede proporcionar cierta disminución del riesgo.

25. La ECTS puede multiplicarse rápidamente en la leche cruda si se encuentra a la temperatura de proliferación de ECTS (Wang *et al.*, 1997), por lo que es fundamental controlar la temperatura de la leche en la fase posterior a su recolección. Para evitar la proliferación microbiana, se debería mantener la leche fría durante su almacenamiento en la explotación y a lo largo de la ruta de extracción (Wang *et al.*, 1997, Kim *et al.* 2014). La temperatura ($\geq 6^\circ\text{C}$), el almacenamiento prolongado de la leche cruda y los recuentos iniciales de bacterias en la leche cruda durante la extracción, el almacenamiento y el transporte se han asociado a un mayor recuento de *E. coli* en la leche cruda. Por el contrario, un fuerte enfriamiento (2°C) prolongó significativamente la duración de la calidad en el almacenamiento. Se debería vigilar la temperatura de la leche durante su almacenamiento y comprobarla antes de su descarga, siempre que sea posible.

26. No se ha establecido que la etapa de transporte constituya un paso susceptible de contaminar la leche con ECTS siempre que se sigan las buenas prácticas.

7. CONTROL DURANTE EL PROCESAMIENTO

7.1. Conocimiento científico

27. Los quesos a base de leche cruda se elaboran con leche cruda coagulada por la acción del cuajo u otros agentes coagulantes adecuados, escurriendo parcialmente el suero resultante de la coagulación, con arreglo al principio de que la elaboración del queso da lugar a la concentración de la proteína de la leche. A continuación, se pueden aplicar diferentes técnicas de elaboración para obtener el producto final. Diferentes tipos de microbiota y reacciones enzimáticas muy diversas desempeñan un complejo papel durante la elaboración y la maduración. Esto da lugar a tipos de queso muy diferentes, como productos blandos, semiduros, duros o extraduros madurados o no madurados, que pueden ser quesos recubiertos, no cocidos o prensados cocidos (con maduración corta o larga), quesos de tipo azul, quesos lácticos y quesos de moho blanco. Los diferentes pasos de elaboración que se aplican y el uso de leches crudas de diferentes especies (por ejemplo, vaca, búfala, cabra, oveja) utilizadas pueden influir en el comportamiento y la supervivencia de las cepas de ECTS (Miszczycha *et al.*, 2013). El comportamiento de la ECTS (supervivencia, proliferación o inactivación) también puede verse influido por la temperatura, las propiedades fisicoquímicas intrínsecas (el pH, la a_w , el porcentaje de ácido láctico) y por otra microflora presente, específica de cada tipo de queso durante la fabricación.

28. En las fases iniciales de la elaboración del queso, la temperatura (alrededor de 30°C) y el valor de la a_w de la leche proporcionan condiciones favorables para la proliferación de ECTS. Durante las primeras horas de la elaboración del queso (transición de la leche a la cuajada), se puede observar un aumento del nivel de ECTS de 1 a 3 log en algunas tecnologías de elaboración del queso. Este aumento se debe a la multiplicación de las células en la leche líquida y luego en la cuajada, donde las células quedan atrapadas (Miszczycha *et al.*, 2013; Peláez *et al.*, 2019).

29. "La cocción" de la cuajada del queso, así como su rápida acidificación (cuando su pH disminuye por debajo de 4,3) junto con el aumento del ácido láctico no disociado, se han vinculado con un rango en las reducciones logarítmicas de ECTS o *E. coli* (de 1 a 4 log UFC/g) (Miszczycha *et al.*, 2013; Donnelly *et al.*, 2018). Sin embargo, la magnitud de la reducción varió en función del serotipo de ECTS y el tipo de queso, dependiendo de sus características fisicoquímicas intrínsecas (Miszczycha *et al.*, 2013).

30. Durante la etapa de maduración, la estabilidad microbiana del queso está determinada por la aplicación combinada de diferentes factores limitantes (pH bajo, valores de la a_w , cloruro de sodio, ácido láctico no disociado, cultivos iniciadores (como bacterias de ácido láctico, moho *Penicillium*)). Gracias a estos factores limitantes, el queso se transforma en un entorno cada vez más desfavorable para la ECTS durante el proceso de fabricación y maduración (Montel *et al.*, 2014). Diversos estudios han demostrado que cuando la maduración es larga y, por tanto, la a_w es baja, disminuye la cantidad de ECTS (Miszczycha *et al.*, 2013). Sin embargo, si el secado no es lo suficientemente prolongado, la a_w sigue siendo alta y no se produce una reducción significativa de ECTS en los productos (Miszczycha *et al.*, 2013 y 2015). No obstante, aunque estos procedimientos reducen la cantidad de ECTS, no pueden garantizar la inocuidad del producto si la leche cruda está contaminada con ECTS (Gill y Oudit, 2015). En consecuencia, la calidad de la leche cruda utilizada en la elaboración del queso es crucial para reducir el riesgo asociado a los productos finales.

7.2. Medidas para prevenir la contaminación de la leche y los productos lácteos

31. La contaminación de los productos lácteos con ECTS durante la elaboración en las plantas de fabricación es poco frecuente si se siguen prácticas de higiene adecuadas (Kousta *et al.*, 2010). Se recomienda que los productos se preparen y manipulen de acuerdo con las secciones correspondientes de los *Principios*

generales de higiene de los alimentos (CXC 1-1969), el *Código de prácticas de higiene para la leche y los productos lácteos* (CXC 57-2004) y otros textos pertinentes del Codex, como los códigos de prácticas de higiene y los códigos de prácticas.

32. El operador de la empresa de alimentos (OEA) debería analizar los riesgos asociados a su proceso de fabricación en relación con la posible proliferación o disminución de ECTS. A partir de esta evaluación, el OEA debe adaptar el proceso o aplicar controles para reducir cualquier riesgo de contaminación y proliferación de ECTS que se identifique.

33. La "cocción" de la cuajada del queso, la acidificación rápida o la maduración prolongada pueden no ser compatibles con algunas prácticas tradicionales de producción, ya que pueden afectar a las características organolépticas del queso. En estos casos, se deberían determinar y aplicar otras medidas de control. Por ejemplo, se puede establecer la realización de análisis de la leche cruda para detectar la presencia de ECTS, así como un programa de auditoría de los proveedores de leche para evaluar sus prácticas higiénicas.

8. INFORMACIÓN SOBRE LOS PRODUCTOS PARA LOS CONSUMIDORES

34. De acuerdo con el *Código de prácticas de higiene para la leche y los productos lácteos* (CXC 57-2004, Sección 9.1), en la etiqueta de los productos a base de leche cruda deberá figurar la indicación de que el producto está hecho con leche cruda, de conformidad con los requisitos nacionales del país donde tenga lugar la venta al por menor.

9. VALIDACIÓN, VIGILANCIA Y VERIFICACIÓN DE LAS MEDIDAS DE CONTROL

9.1 Recuento de *E. coli* y realización de análisis de ECTS

35. Aunque la ECTS se puede aislar de la leche cruda y de los quesos a base de leche cruda, es poco común realizar análisis de ECTS, y la mayoría de los protocolos de muestreo y realización de pruebas se centran en organismos indicadores como *E. coli*, cuyo nivel puede utilizarse como indicador de la calidad de la leche cruda antes de la producción de quesos a base de leche cruda. Los criterios microbiológicos (véanse los *Principios y directrices para el establecimiento y la aplicación de criterios microbiológicos relativos a los alimentos* (CXG 21-1997) basados en indicadores de proceso e higiene (*E. coli* o enterobacteriáceas) también pueden resultar una herramienta útil para la validación, la vigilancia y la verificación de las medidas de control.

36. Aunque son marcadores higiénicos útiles para la calidad de la leche cruda, la presencia o concentración de *E. coli* genérica o de otros organismos indicadores en la leche cruda no supone la presencia de ECTS. Es necesario realizar análisis más específicos en caso de que se trate de alertas alimentarias. También pueden llevarse a cabo análisis periódicos de detección de la ECTS de "alto riesgo"¹⁸ para verificar las prácticas de higiene (FAO/OMS, 2018).

9.2 Validación y vigilancia de las medidas de control

37. Las medidas de control se deberían validar antes de su aplicación. Para limitar el coste de este importante paso, lo pueden compartir varios OEA y una asociación profesional que pueda recopilar, analizar e interpretar los datos con el fin de establecer medidas alternativas o mejoradas, por ejemplo, redactando directrices de BPH adaptadas al contexto local o a los pasos tradicionales de la elaboración.

38. La descripción de las medidas de control también puede incluir los procedimientos para vigilar su aplicación con el fin de garantizar que se lleven a cabo según lo previsto.

9.3 Verificación de las medidas de control

39. **En la granja lechera:** Se pueden realizar periódicamente pruebas para detectar la presencia de organismos indicadores de la contaminación fecal utilizando indicadores de higiene en la leche. Por ejemplo, el análisis rutinario de la leche en el punto de producción para detectar indicadores de calidad microbiana (*E. coli*, niveles de coliformes o recuento total de aerobios en placa) puede proporcionar información sobre la higiene de la explotación. No obstante, unos niveles bajos de los indicadores de calidad microbiana no confirman la ausencia de ECTS ni de otros patógenos.

40. Se debería reforzar la vigilancia cuando se detecten cepas de ECTS en la leche o en el queso. En estas situaciones, la opinión de técnicos expertos o la orientación de organizaciones profesionales, así como la orientación de las autoridades competentes, puede contribuir a identificar los factores de riesgo de contaminación de la leche. Por último, se debería definir un criterio para determinar cuándo se debe retomar

¹⁸ "Las ECTS de "alto riesgo" son generalmente aquellas que presentan factores de virulencia patógena que son responsables de un número significativo de enfermedades o que causan las enfermedades más graves, y esto puede variar dependiendo del país.

la vigilancia rutinaria. Este criterio se debería basar en la experiencia y en la evaluación estadística del historial de análisis microbiológicos.

41. Las auditorías generales de higiene pueden ser útiles para comprobar con frecuencia periódica que las BPH se aplican eficazmente en cada una de las explotaciones en las que se recoge la leche. Las puede realizar el establecimiento lechero o una asociación profesional local.

42. **Recogida de la leche en el establecimiento lechero:** El seguimiento rutinario de la calidad de la leche cruda que recibe el establecimiento lechero (indicadores o ECTS) se puede basar en muestras que se toman periódicamente o incluso en cada carga. La toma de muestras en los filtros de leche puede ser un punto de vigilancia más adecuado para la ECTS que la leche cruda del tanque a granel, teniendo en cuenta la dilución debida a la mezcla y los problemas de contaminación esporádica.

43. Cuando se detecten cepas de ECTS en la leche mezclada descargada en la planta de elaboración, se puede establecer un seguimiento reforzado de todos los proveedores. En esta situación, otra medida podría ser aumentar la frecuencia de la toma de muestras y del análisis de ECTS para evaluar el origen de la leche de la cepa, la magnitud de la contaminación y la persistencia de las cepas en la planta de elaboración. Después se deberían definir los criterios para retomar la vigilancia rutinaria.

44. **Durante la elaboración:** Una alternativa que algunos OEA pueden considerar para la leche cruda (leche negativa a ECTS) es el control de calidad de la leche basado en la detección de ECTS. No obstante, este enfoque puede resultar difícil debido a la complejidad, el tiempo que insume y el costo de los análisis de detección de ECTS en la leche. Como alternativa, se pueden realizar controles de la calidad de la leche basados en *E. coli*, con objeto de verificar la aplicación de buenas prácticas de higiene.

45. La toma de muestras y el análisis de los quesos a base de leche cruda es una parte importante de los planes de verificación, para confirmar que las prácticas y los procedimientos descritos en el programa de inocuidad alimentaria son satisfactorios. La precisión de los resultados de las pruebas de calidad y composición es crucial y depende de que se realice un muestreo correcto y una manipulación adecuada de las muestras, del tipo de muestras representativas y de que se utilicen métodos adecuados. Para el seguimiento rutinario, los OEA deberían considerar la posibilidad de analizar el queso durante las primeras fases de fabricación, cuando es probable que se produzca el pico de proliferación de ECTS. En ese momento, los análisis tendrían una mayor sensibilidad que si se realizan en el producto final y los productores evitarían el gasto de maduración y almacenamiento de productos contaminados. El análisis también podría realizarse durante la maduración o antes de la comercialización del queso.

46. Cuando las ECTS están presentes accidentalmente en la leche cruda, se han encontrado en niveles muy bajos en los quesos (Strachan *et al.*, 2001; Buvens *et al.*, 2011; Miszczycha *et al.*, 2013; Gill y Oudit, 2015). Esta contaminación se caracteriza por una distribución heterogénea (Autry *et al.*; 2005), lo que dificulta la detección de la ECTS. Por lo tanto, los planes de muestreo deberían diseñarse de acuerdo con las *Directrices generales sobre muestreo* (CXG 50-2004). Además, los planes de muestreo deberían adaptarse a toda la cadena de producción (número de muestras, naturaleza de las mismas (por ejemplo: leche, queso al inicio de la coagulación, durante la maduración, etc.), cantidad analizada, frecuencia de los análisis, etc.).

47. El OEA define su plan de muestreo en función de su propio nivel de calidad aceptable.

48. Se puede establecer un seguimiento reforzado cuando se detecten ECTS en las cuajadas o los quesos, o en caso de riesgo para la salud pública. Por ejemplo, se puede determinar la presencia de ECTS con mayor detalle en otros lotes de quesos para evaluar el alcance de la contaminación. Además, es importante identificar el resto de la leche contaminada, si la hubiera, para dejar de utilizarla.

49. **Evaluación cuantitativa de riesgos:** Pueden aplicarse varios planes de muestreo en diferentes etapas (en la leche recogida en la granja, la leche entregada en el establecimiento lechero, cuajadas, productos finales). Combinarlos en un modelo de evaluación cuantitativa del riesgo (ECR) puede ayudar a evaluar la eficacia de este plan de muestreo, mediante simulación, en términos de reducción del riesgo de enfermedad y del porcentaje de lotes rechazados. Se han desarrollado modelos de ECR específicos para la ECTS en varias matrices de quesos a base de leche cruda (Perrin 2014; véase también el dictamen del ANSES de 2018 sobre ECTS (consulta n° 2018-SA-0164)). Los modelos de ECR también se pueden construir a partir de las bases de datos obtenidas al combinar los resultados de los análisis microbiológicos realizados periódicamente en la leche a diferentes niveles (granja y tanque) y en el queso (durante el proceso y en el producto final), los valores de los parámetros tecnológicos del proceso y los valores fisiológicos (por ejemplo, pH, a_w , resistencia a los ácidos) relativos a la capacidad de proliferación o supervivencia de los microorganismos considerados.

50. Los modelos de ECR pueden ayudar a comparar los planes de muestreo para determinar cuál de ellos proporciona una mejor protección.

51. **Aplicación de programas de prerequisites, como las buenas prácticas de higiene y los principios del HACCP:** Debido a la escasa frecuencia y el bajo nivel de contaminación por cepas de ECTS, así como a los límites de los planes de muestreo, lo que reducirá el riesgo de contaminación por ECTS de los productos comercializados es la combinación de medidas de control (incluidas las BPH y el HACCP, cuando proceda) a lo largo de la cadena láctea.

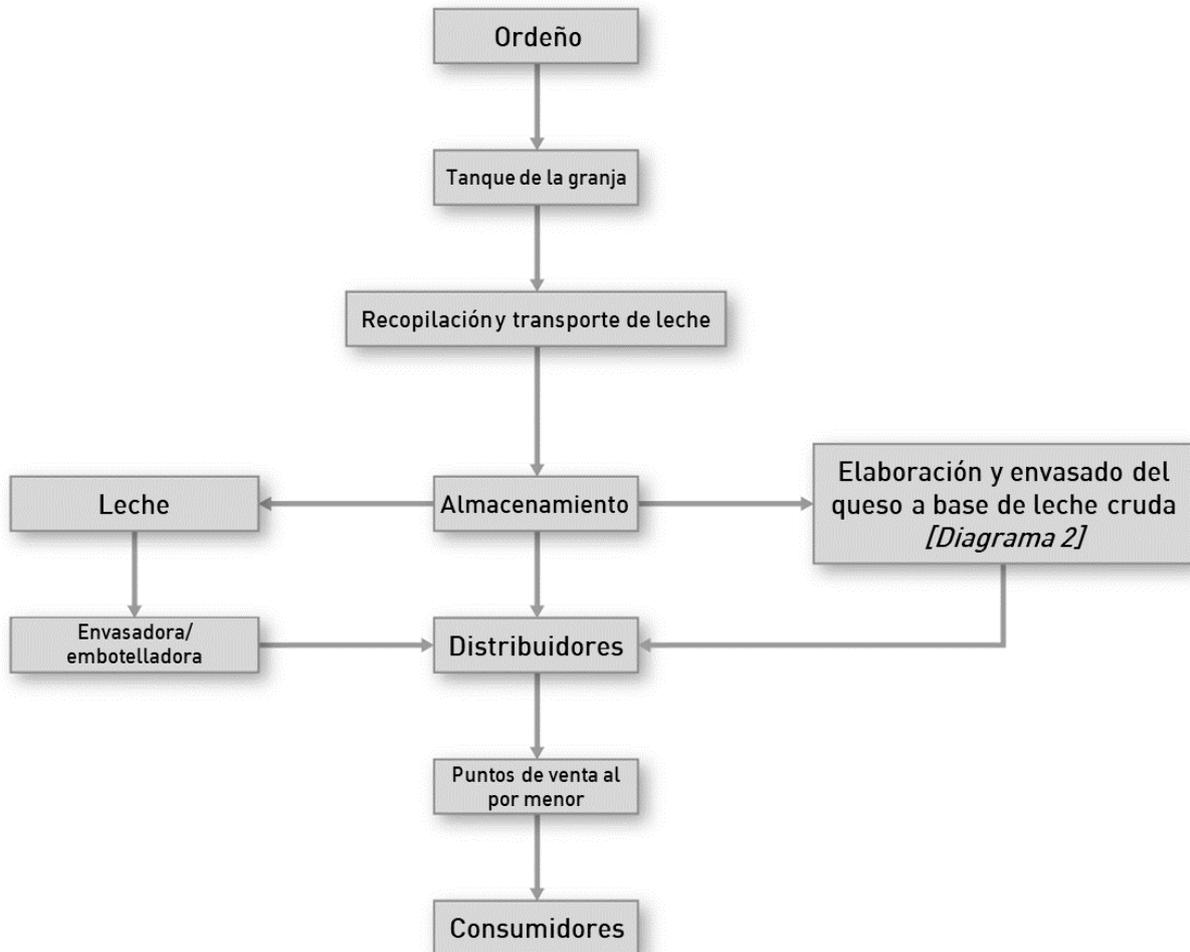
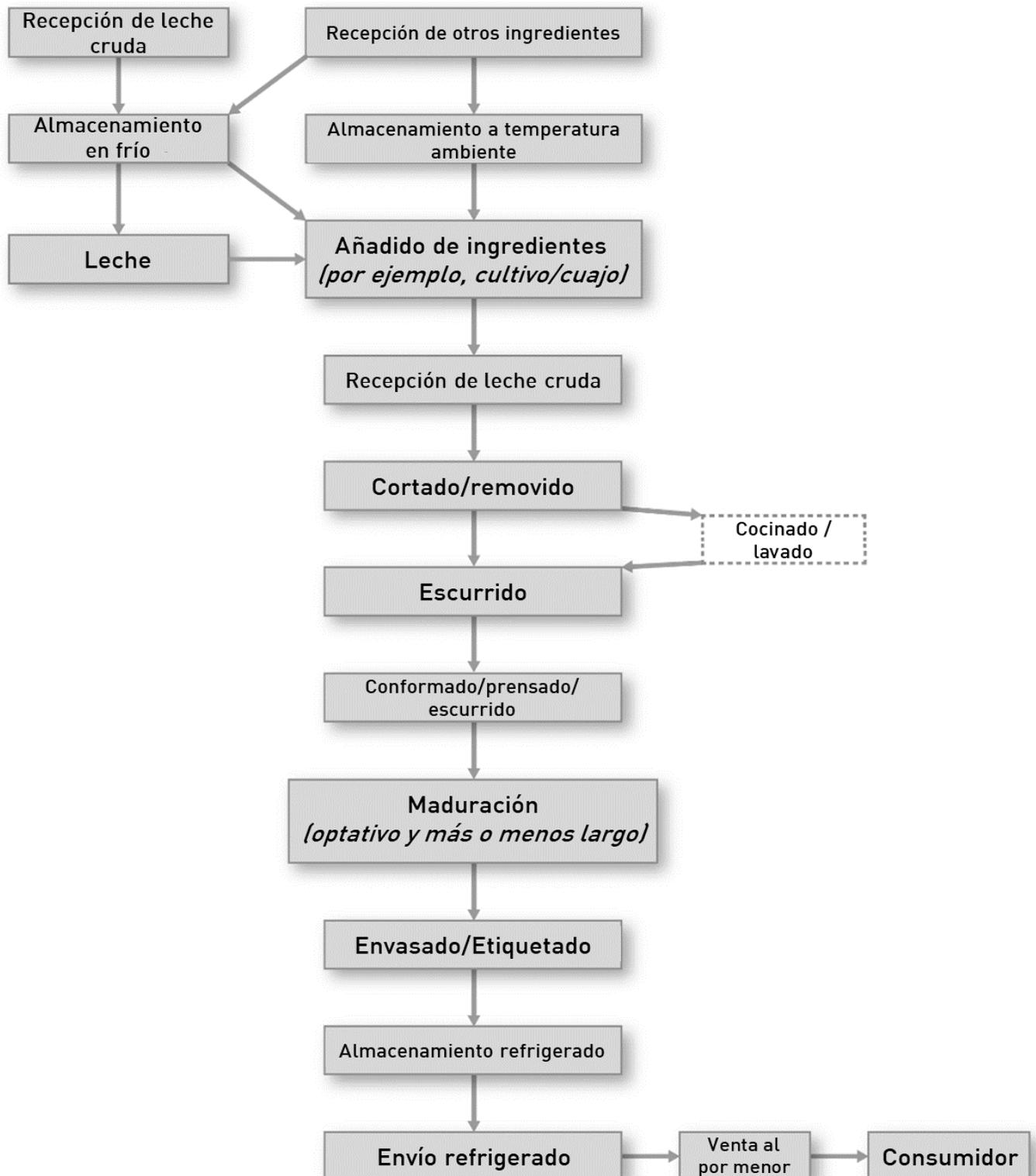
Diagrama 1. Diagrama de flujo del proceso de la leche cruda

Diagrama 2. Elaboración de queso a partir de leche cruda



Referencias

- Avis de l'ANSES (Saisine n°2018-SA-0164) : relatif au protocole de reprise de la commercialisation de reblochons proposé par l'entreprise Chabert. <https://www.anses.fr/fr/system/files/BIORISK2018SA0164.pdf>
- Auty *et al.* (2005). In situ localization of *Escherichia coli* O157:H7 in food by confocal scanning laser microscopy. *J. Food Prot.* 68:482–486
- Baylis CL. (2009). Raw milk and raw milk cheeses as vehicles for infection by Verotoxin-producing *Escherichia coli*. *International Journal of Dairy Technology.* 62: 293-307.
- Berry, E.D., Wells, J.E., (2010). *Escherichia coli* O157:H7: recent advances in research on occurrence, transmission, and control in cattle and the production environment. *Advances in Food and Nutrition Research* 60, 67–117 (Chapter 4).
- Bosilevac *et al.* (2015) Prevalence of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* in camels, cattle, goats, and sheep harvested for meat in Riyadh. *J Food Prot.* 78(1):89-96. doi: 10.4315/0362-028X.JFP-14-176.
- Brown, CA *et al.* (1997). Experimental *Escherichia coli* O157:H7 carriage in calves. *Appl. Env. Microbiol.* 63: 27-32.
- Butcher *et al.* (2016). Whole genome sequencing improved case ascertainment in an outbreak of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157 associated with raw drinking milk. *Epidemiology and Infection*, 144(13), 2812-2823. doi:10.1017/S0950268816000509
- Buvens *et al.* (2011). Virulence profiling and quantification of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O145:H28 and O26:H11 isolated during an ice cream-related hemolytic uremic syndrome outbreak. *Foodborne Pathog. Dis.* 8:421–426
- Chase-Topping, M., Gally, D., Low, C., Matthews, L., Woolhouse, M., (2008). Supershedding and the link between human infection and livestock carriage of *Escherichia coli* O157. *Nature Reviews Microbiology* 6, 904–912.
- Currie, A *et al.* (2018). Outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections linked to aged raw milk Gouda cheese, Canada, 2013. *J. Food Protect.* 81: 325-331
- Elwell MW and Barbano DM. (2006). Use of microfiltration to improve fluid milk quality. *J. Dairy Sci.* 89(E. Suppl.):E10-E30
- Espie E *et al.* (2006). *Escherichia coli* O157:H7 outbreak associated with fresh unpasteurized goat's cheese. *Epidemiol. Infect.* 134:143-146.
- Ellis-Iversen J, Smith RP, Van Winden S, Paiba GA, Watson E, Snow LC, Cook AJ. *Vet Res* (2008). Farm practices to control *E. coli* O157 in young cattle--a randomised controlled trial. *Jan-Feb;39(1):3.* doi: 10.1051/vetres:2007041. Epub 2007 Oct 25.
- Farrokh *et al.* (2012). Review of Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and their significance in dairy production. *Int J Food Microbiol.* 2013 Mar 15;162(2):190-212
- Fremaux *et al.* (2008). Persistence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O26 in various manure-amended soil types. *Journal of applied Microbiology*, 104(1), 296-304.
- Gesan-Guiziu, G. (2010). Removal of bacteria, spores and somatic cells from milk by centrifugation and microfiltration techniques. In Griffiths (Ed). *Improving the safety and quality of Milk. Milk production and processing vol. 1.* CRC Press.
- Holm S. *et al.* (1986). Method and plant for producing milk with a low bacterial content. Alfa-Laval Food and Dairy Engineering AB, Sweden, assignee. Int. Patent PCT WO 86/01687.
- Honish L. *et al.* (2005). An outbreak of *E. coli* O157:H7 hemorrhagic colitis associated with unpasteurized Gouda cheese. *Canada. Jr. Public Health.* 96: 182-184.
- Jacob *et al.* (2013). Evidence of Non-O157 Shiga Toxin–Producing *Escherichia coli* in the Feces of Meat Goats at a U.S. Slaughter Plant". *J Food Prot* (2013) 76 (9): 1626–1629. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-13-064>
- Jang, J *et al.* (2017) Environmental *Escherichia coli*: ecology and public health implications – a review. *J. App. Microbiol.* 123(3):570-581. DOI: 10.1111/jam.13468
- Kim, K *et al.* (2014). Kinetic behaviour of *Escherichia coli* on various cheeses under constant and dynamic temperature. *Asian Australas. J. Anim. Sci.* 27: 1013-1018. <http://dx.doi.org/10.5713/ajas.2013.13579>

- Kousta, M., Mataragas, M., Skandamis, P., Drosinos, E.H., 2010. Prevalence and sources of cheese contamination with pathogens at farm and processing levels. *Food Control* 21, 805–815.
- Lasowski et al. (2013). Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in drinking water supplies of north Paraná State, Brazil. *J. Appl. Microbiol.* 114 :1230-1239
- LeJeune et al. (2001) Livestock drinking water microbiology and the factors influencing the quality of drinking water offered to cattle. *J. Dairy Sci.* 2001 Aug;84(8):1856-62.
- Lira, W.M., Macedo, C., Marin, J.M., (2004). The incidence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in cattle with mastitis in Brazil. *Journal of Applied Microbiology* 97, 831–866.
- Mungai, E. A., Behravesh, C., & Gould, L. (2015). Increased Outbreaks Associated with Nonpasteurized Milk, United States, 2007–2012. *Emerging Infectious Diseases*, 21(1), 119-122. <https://dx.doi.org/10.3201/eid2101.140447>.
- Nyberg et al. (2019) Long-term survival of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* Typhimurium in cowpats on pasture. *J Appl Microbiol.* 126(2):651-660. doi: 10.1111/jam.14148
- Oliver, SP et al. 2009. Food safety hazards associated with consumption of raw milk. *Foodborne Pathogens and Disease*.6: 793-806.
- Otero et al. (2017). Detection and characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) in bulk tank ewes' milk and sheep farm *environment*<https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2017.08.002>
- Pinaka et al. (2013) Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in Central Greece: prevalence and virulence genes of O157:H7 and non-O157 in animal feces, vegetables, and humans. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 32(11):1401-1408. doi: 10.1007/s10096-013-1889-6.
- Perrin F. et al. (2015). Quantitative risk assessment of hemolytic and uremic syndrome linked to O157:H7 Shiga-toxin producing *Escherichia coli* strains in raw milk soft cheeses. *Risk Analysis*. 35: 109-128.
- Ruegg PL (2003). Practical food safety interventions for dairy production. *Journal of Dairy Science*. 68: E. Suppl:E1-E9
- Sabillón et al. (2020). Reduction in pathogenic load of wheat by tempering with saline organic acid solutions at different seasonal temperatures. *Int J Food Microbiol.* 2020 Jan 16;313:108381. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2019.108381. Epub 2019 Oct 22.
- Sanderson MW, Sargeant JM, Shi X, Nagaraja TG, Zurek L, Alam MJ. *Appl Environ Microbiol* (2006). Longitudinal emergence and distribution of *Escherichia coli* O157 genotypes in a beef feedlot. *Dec;72(12):7614-9.* doi: 10.1128/AEM.01412-06. Epub 2006 Oct 20
- Saxena T et al. (2015) *Diagnostic microbiology and infectious disease.* Jul 1;82(3):249-64.
- Schets FM, During M, Italiaander R, Heijnen L, Rutjes SA, van der Zwaluw WK, de Roda Husman AM (2005) *Escherichia coli* O157:H7 in drinking water from private water supplies in the Netherlands. *Water Res* 39:4485–4493
- Schilling et al. (2012) Zoonotic agents in small ruminants kept on city farms in southern Germany. *Appl Environ Microbiol.* 78(11):3785-3793. doi: 10.1128/AEM.07802-11.
- Stephan, R., Kuhn, K., 1999. Prevalence of verotoxin-producing *Escherichia coli* (VTEC) in bovine coli mastitis and their antibiotic resistance patterns. *Zentralblatt für Veterinärmedizin B* 46, 423–427
- Strachan et al. (2001). Modelling the vector pathway and infection of humans in an environmental outbreak of *Escherichia coli* O157. *FEMS Microbiol. Lett.* 203:69–73.
- Teunis et al. (2004). Dose response for infection by *Escherichia coli* O157:H7 from outbreak data. *Risk Anal.* 24:401–407.
- Teunis et al. (2008). Hierarchical dose response of *E. coli* O157:H7 from human outbreaks incorporating heterogeneity in exposure. *Epidemiol. Infect.* 136(6):761–770. DOI: 10.1017/S0950268807008771
- Trzaskowska et al. (2018). Pathogen reduction on mung bean reduction of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella enterica* and *Listeria monocytogenes* on mung bean using combined thermal and chemical treatments with acetic acid and hydrogen peroxide. *Food Microbiol.* 2018 Dec;76:62-68. doi: 10.1016/j.fm.2018.04.008. Epub 2018 Apr 18.
- Treacy, J et al. (2019). Outbreak of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 linked to raw drinking milk resolved by rapid application of advanced pathogen characterization methods, England, August to October 2017. *Euro Surveill.* 2019; 24(16):pii=1800191. <https://doi.org/10.2807/1560-7917>

- Vu-Khac, H., y Cornick, N. A. 2008. Prevalence and genetic profiles of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains isolated from buffaloes, cattle, and goats in central Vietnam. *Veterinary Microbiology*, 126:356-363. doi: 10.1016/j.vetmic.2007.07.023.
- Wang, G *et al.* 1997. Survival and growth of *Escherichia coli* O157:H7 in unpasteurized and pasteurized milk. *J. Food. Protection* 60: 610-613
- Wang R, Bono JL, Kalchayanand N, Shackelford S, Harhay DM. (2012) *J Food Prot.* 75(8):1418-28.
- Zaheri *et al.* (2020) Public health aspects of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) strains in sheep and goats of Bakhtiari pastoral tribe, Iran. *Trop Anim Health Prod.* doi: 10.1007/s11250-020-02245-2.

APÉNDICE III

LISTA DE PARTICIPANTES**Presidencia****Chile**

Constanza Vergara
Agencia Chilena para la Calidad e Inocuidad Alimentaria (ACHIPIA)
constanza.vergara@achipia.gob.cl

Copresidencias**Estados Unidos de América**

Jenny Scott, US FDA
jenny.scott@fda.hhs.gov
William Shaw, USDA FSIS
william.shaw@fsis.usda.gov

Francia

Delphine Sergentet
Vetagro Sup
delphine.sergentet@vetagro-sup.fr

Yann Louguet
Ministry of Agriculture
yann.louguet@agriculture.gouv.fr

Matthieu Mourer
Ministry of Agriculture
matthieu.mourer@agriculture.gouv.fr

Nueva Zelanda

Marion Castle
Ministry of Primary Industry
marion.castle@mpi.govt.nz

Roger Cook
Ministry of Primary Industries
roger.cook@mpi.govt.nz

Países miembros y observadores

Argentina

María Esther Carullo
 SENASA
mcarullo@senasa.gob.ar

Josefina Cabrera
 INAL
josefina@anmat.gov.ar

Australia

Angela Davies
 Food Standards Australia New Zealand
Angela.Davies@foodstandards.gov.au

Bélgica

Katrien De Pauw
 Federal Public Service Health, Food Chain
 Safety and Environment
Katrien.depauw@health.fgov.be

Brasil

Lígia Lindner Schreiner
 Brazilian Health Regulatory Agency
Ligia.Schreiner@anvisa.gov.br

Carolina Araújo Vieira
 Brazilian Health Regulatory Agency
Carolina.Vieira@anvisa.gov.br

Camerún

Edima Carolle epse Durand
 Université de Ngaoundéré
edimacarole@yahoo.fr

Tatsadjieu Léopold Ngoune
 Université de Ngaoundéré
tatsadjieu@yahoo.fr

Kayitavu Ingratia Marie Luz epse Kone Sim
 Ministère des Mines, de l'Industrie et du
 Développement Technologique
kayitavu@yahoo.fr

Canadá

Cathy Breau
 Bureau of Microbial Hazards, Food Directorate
 Health Canada
Cathy.breau@canada.ca

Colombia

Mauricio Arturo Alarcón Serrano
 INVIMA
malarcons@invima.gov.co

Costa Rica

Amanda Lasso Cruz
 Secretaría Codex Costa Rica
alasso@meic.go.cr

Dinamarca

Gudrun Sandø
 Danish Veterinary and Food Administration
gus@fvst.dk

Finlandia

Eveliina Palonen
 Ministry of Agriculture and Forestry
eveliina.palonen@mmm.fi

FAO

Josheski Martin
 Food and Veterinary Agency

JEMRA de la FAO

Kang Zhou
kang.zhou@fao.org

Francia

Fany Molin
 Ministry of Agriculture
fany.molin@agriculture.gouv.fr

Anne Bertomeu
 Ministry of Agriculture
anne.bertomeu@agriculture.gouv.fr

Diane Cuzzucoli
 Ministry of Agriculture
diane.cuzzucoli@agriculture.gouv.fr

Nathalie Veauclin
nveauclin@cultureviande.fr

Catherine Farrokh
cfarrokh@cniel.com

Cécile Bailly
cecile.bailly@roquefort.fr

Alemania

Dr. Udo Wiemer
 Federal Ministry of Food and Agriculture
udo.wiemer@bmel.bund.de

Honduras

María Eugenia Sevilla
 SENASA
msevilla@senasa.gob.hn

Mirian Bueno Almendarez
 SENASA
mbueno@senasa.gob.hn

ICMSF

Dr. Leon Gorris
leongorris@gmail.com

Federación Internacional Lechera

Aurélie Dubois-Lozier
adubois@fil-idf.org

IFT

Rosetta Newsome
rnewsome@ift.org

Irán

Samaneh Eghtedari
 ISIRI
seghtedaryn@gmail.com

Irlanda

Kilian Unger
 Department of Agriculture, Food and the Marine
kilian.unger@agriculture.gov.ie

Wayne Anderson
 Food Safety Authority
wanderson@fsai.ie

Japón

Kojima Mina
 Ministry of Health, Labour and Welfare
codexj@mhlw.go.jp

Tomoko Matsuta-Goshim
 Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries
tomoko_goshima870@maff.go.jp

Shinnosuke Miki
 Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries
Shinnosuke_miki400@maff.go.jp

Hajime Toyofuku
 Joint Faculty of Veterinary Medicine
toyofuku@yamaguchi-u.ac.jp

Malasia

Raizawanis Abdul Rahman
 Ministry of Health
raizawanis@moh.gov.my

Sakhiah Bt Md Yusof
 Ministry of Health
sakhiah@moh.gov.my

Marruecos

Oleya El Hariri
 l'Office National de Sécurité Sanitaire des
 Produits Alimentaires (ONSSA)
oleyafleur@yahoo.fr

Bouchra Meassaoudi
 l'Office National de Sécurité Sanitaire des
 Produits Alimentaires (ONSSA)
bouchring@yahoo.fr

Países Bajos

Arie Ottevanger
 Ministry of Health, Labour and Welfare
a.ottevanger@minvws.nl

Nigeria

Dr Salome Tafida Bawa
 Federal Ministry of Agriculture and Rural
 Development
drtafida143@yahoo.com

Paraguay

Patricia Maldonado
 Instituto Nacional de Alimentación y Nutrición -
 Ministerio de Salud y Bienestar Social
elpamaga@gmail.com

Perú

Juan Carlos Huiza Trujillo
 DIGESA Ministerio de Salud
codex@minsa.gob.pe

Maria Eugenia Nieva Muzurrieta
 DIGESA Ministerio de Salud
mnieva@minsa.gob.pe

Sonia Susana Cordova Jara
 DIGESA Ministerio de Salud
scordova@minsa.gob.pe

Polonia

Magdalena Kowalska
 Agricultural and Food Quality Inspection
kodeks@ijhars.gov.pl

República de Corea

The Republic of Korea CCP
Ministry of Agriculture Food and Rural Affairs
(MAFRA)
codex1@korea.kr

Eun Song Cho
Ministry of Agriculture Food and Rural Affairs
(MAFRA)
echo27@korea.kr

Eunjung Roh
National Institute of Agricultural Sciences
rosalia51@korea.kr

Sung-youn Kim
National Agricultural Quality management
Service
youn5326@korea.kr

Yongmu Kim
Ministry of Food and Drug Safety (MFDS)
ymkim73@korea.kr

Sujin Jo
Ministry of Food and Drug Safety (MFDS)
codexkorea@korea.kr

República de Eslovaquia

Lenka Cabanová
State Veterinary and Food Institute Dolný Kubín
lenka.cabanova@svpu.sk

Suecia

Viveka Larsson
National Food Agency
viveka.larsson@slv.se

Satu Salmela
National Food Agency
satu.salmela@slv.se

Suiza

Mark Stauber
Federal Food Safety and Veterinary Office
FSVO
Mark.Stauber@blv.admin.ch

Tailandia

Natthakarn Nammakuna
National Bureau of Agricultural Commodity
and Food Standards (ACFS), Ministry of
Agriculture and Cooperatives
natthakarn@acfs.go.th;

Uganda

George Nasinyama
gwnasinyama@gmail.com

Ediriisa Mugampoza
Kyambogo University
mugampoza@yahoo.com

Stellah Byakika
Makerere University
stellahbyakika@gmail.com

Allan Ochieng
Makerere University
alloch2001@gmail.com

Michelle Kyeyune
St. Micheals Food Lab and Consultancy Ltd
michellekyeyune@yahoo.com

Rose Nakimuli
Chemiphar Uganda Limited
nakimulirose@yahoo.com

Ivan Mukisa
Makerere University
ivanmukisa@gmail.com

Edward Kizza
Uganda National Bureau of Standards
edward.kizza@unbs.go.ug

Arthur Mukanga
Uganda National Bureau of Standards
arthur.mukanga@unbs.go.ug

Reino Unido

Ian Woods
Food Standards Agency
ian.woods@food.gov.uk

Uruguay

Norman Bennett
Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca
nbennett@mgap.gub.uy