

Herramienta para mapear las transmisiones de Salmonella en la cadena de producción:  
*fundamentar las decisiones de gestión reduciendo el impacto de Salmonella*

Antonio Sanz

Director Internacional de Ventas  
Check-Points/Indical Bioscience GmbH



No publicar sin el consentimiento por escrito de INDICAL BIOSCIENCE GmbH, Deutscher Platz 5b, 04103 Leipzig, Alemania. Para obtener información actualizada sobre licencias y exenciones de responsabilidad específicas del producto, consulte el manual o el manual de usuario correspondiente. Las imágenes del producto en esta presentación pueden diferir del producto real. Los nombres registrados, marcas comerciales, etc., utilizados en esta presentación, incluso cuando no estén específicamente marcados como tales, no se considerarán desprotegidos por ley. © 2023 INDICAL BIOSCIENCE

## La importancia de controlar la Salmonella:



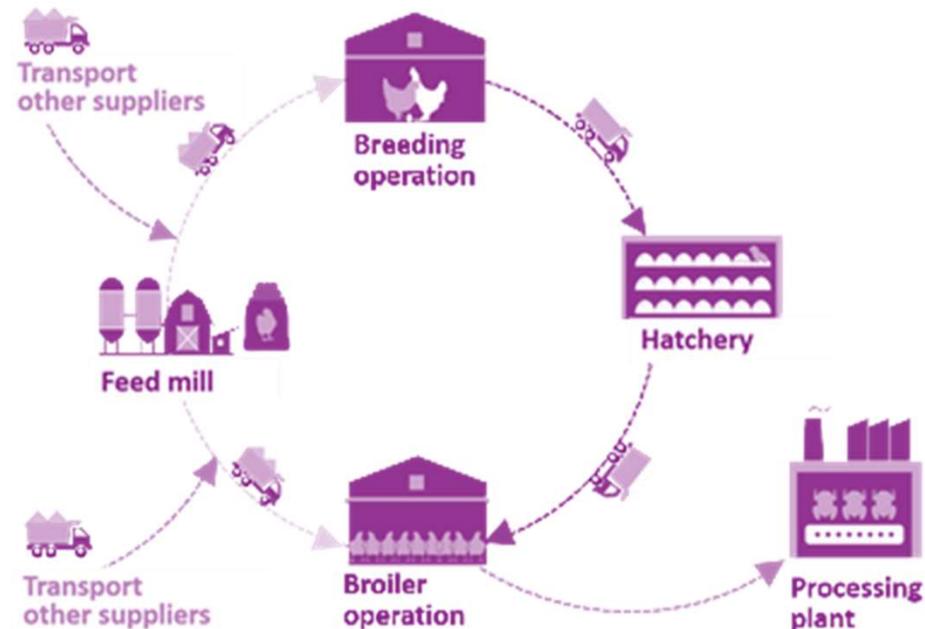
Reducción de Salmonella en procesamiento alimentario está fundamentado principalmente en:

- Riesgo para la salud pública: Puede provocar brotes con consecuencias graves (incluida la hospitalización y la muerte)
- Requisitos reglamentarios: Cumplimiento de las normas de seguridad alimentaria
- Confianza del consumidor: garantiza la seguridad alimentaria, mejora la reputación de la marca y reduce los riesgos de retirada del mercado.

## Reducción de *Salmonella* a nivel de producción

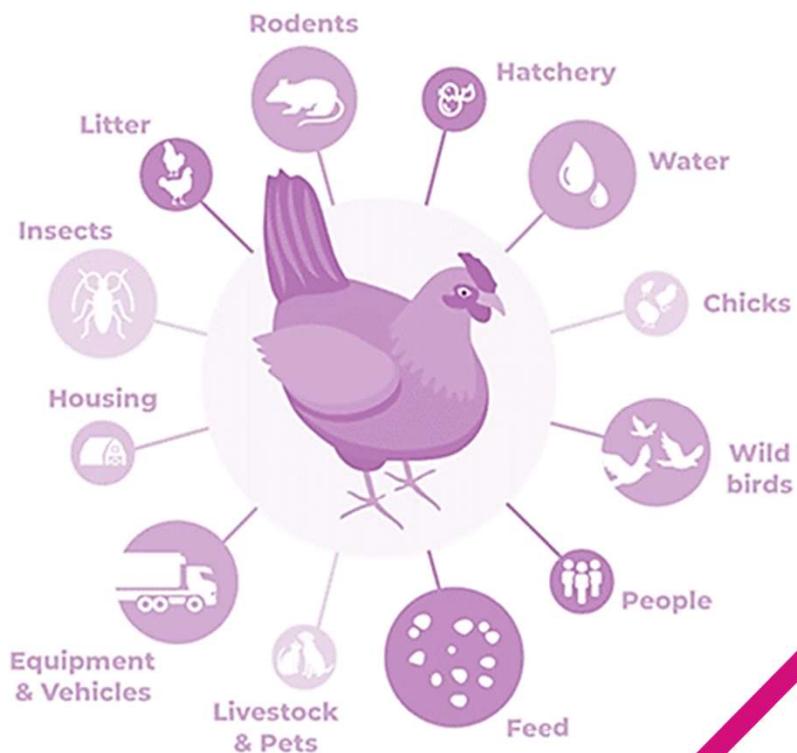
La diferenciación de *Salmonella* es esencial para comprender la epidemiología de *Salmonella*, rastrear el origen de los brotes y monitorear la eficacia de las medidas de control.

Debido a la gran cantidad de posibles fuentes de entrada, la combinación de varios métodos suele proporcionar los datos más sólidos para diferenciar y rastrear cepas de *Salmonella*.



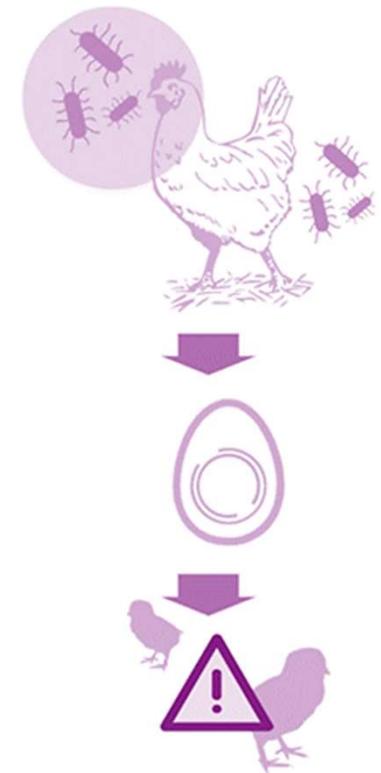
Los tipos de intervenciones que se permiten e implementan varían mucho según el país de producción y la clase de producto

## Identificación de *Salmonella* a nivel de producción



Transmisiones en  
la cadena de  
producción:

**Vertical y/o  
horizontal**



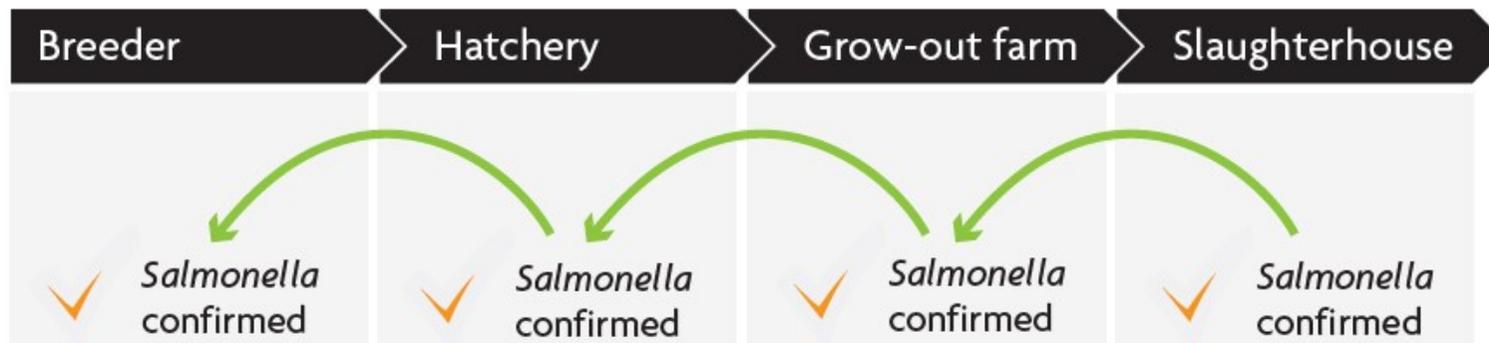
## Reducción de *Salmonella* a nivel de producción



### *Fuentes de contaminación por Salmonella en el procesamiento de alimentos*

- Materias Primas: carne, aves, huevos y productos frescos.
- Equipos de procesamiento: superficies, herramientas y utensilios contaminados.
- Contaminación cruzada: manipulación o almacenamiento inadecuados que pueden provocar la propagación de alimentos crudos a cocidos.

## Necesidad clara del mercado: la detección temprana y la rápida trazabilidad de la contaminación son cruciales

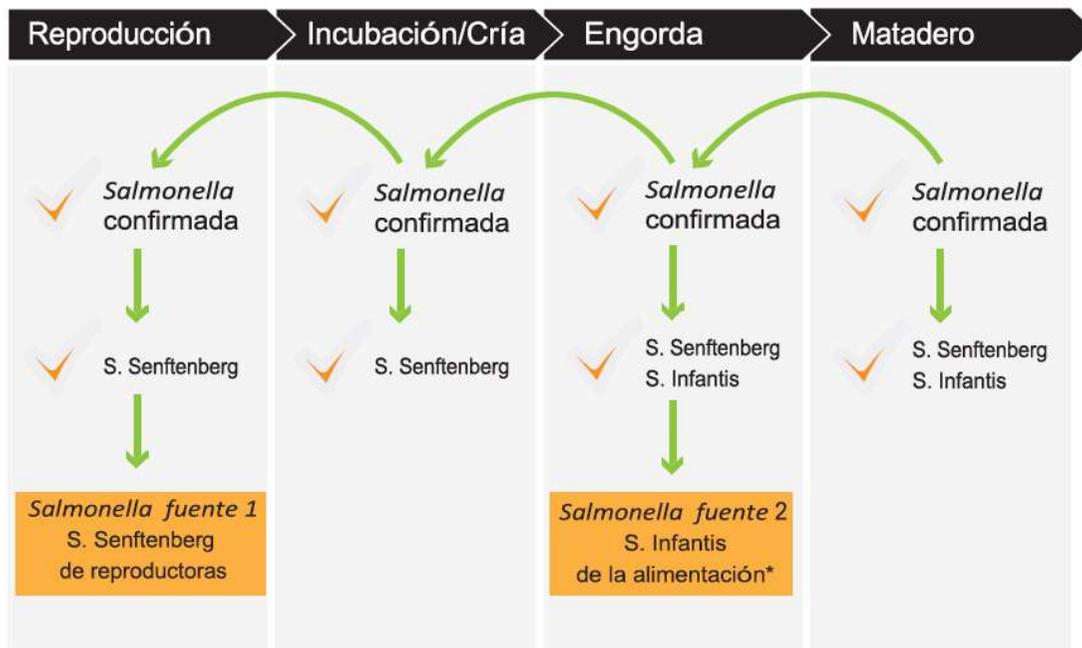


- Serotipificación de *Salmonella* se ha probado esencial en cualquier programa de reducción de Salmonella (en relación con una simple confirmación de Salmonella spp, presencia/ausencia )
- El serogrupo por sí solo tampoco es suficiente para descartar falsos positivos debido a reacciones cruzadas por ejemplo, por Citrobacter o Enterobacter spp.

## Necesidad clara del mercado: la detección temprana y la rápida trazabilidad de la contaminación son cruciales: ejemplo práctico

**El Problema:** Contaminación por *Salmonella* encontrado en el producto final. ¿De dónde proviene?

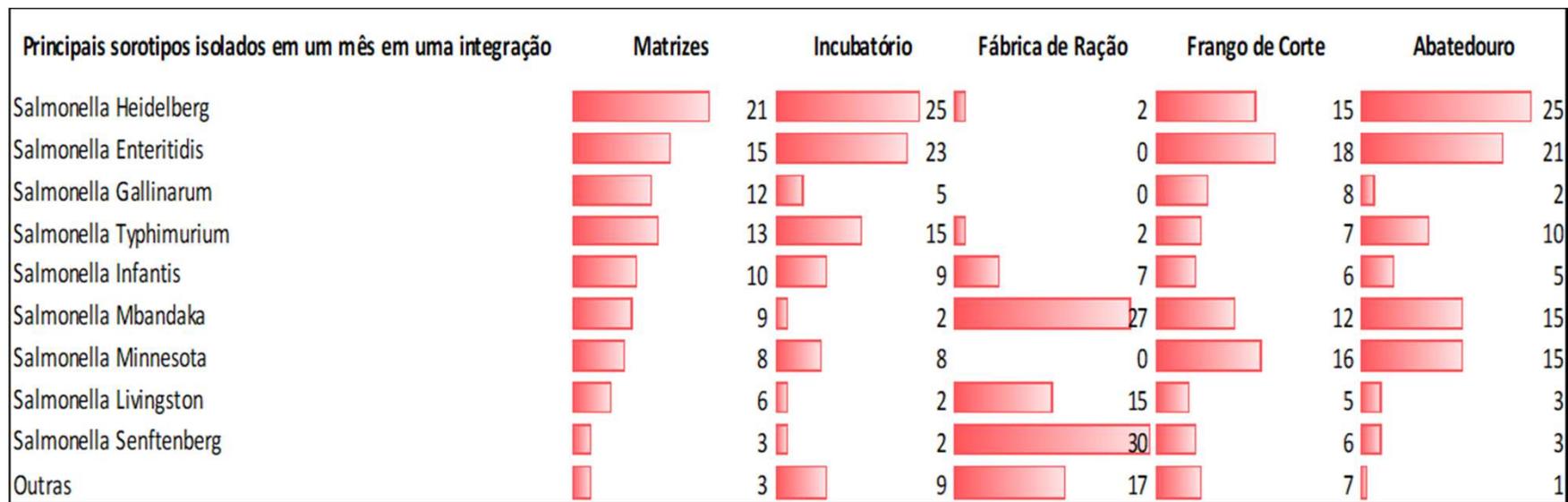
**La Solución:** Check&Trace Salmonella



- 1 Check&Trace Salmonella confirma la presencia de *Salmonella* en la cadena de suministros...
- 2 ... e identifica los serotipos involucrados.
- 3 La contaminación por *Salmonella* puede ser rastreada y eliminada.

\* Muestreros y pruebas adicionales llevaron a la conclusión de que la contaminación se originó a partir de la alimentación.

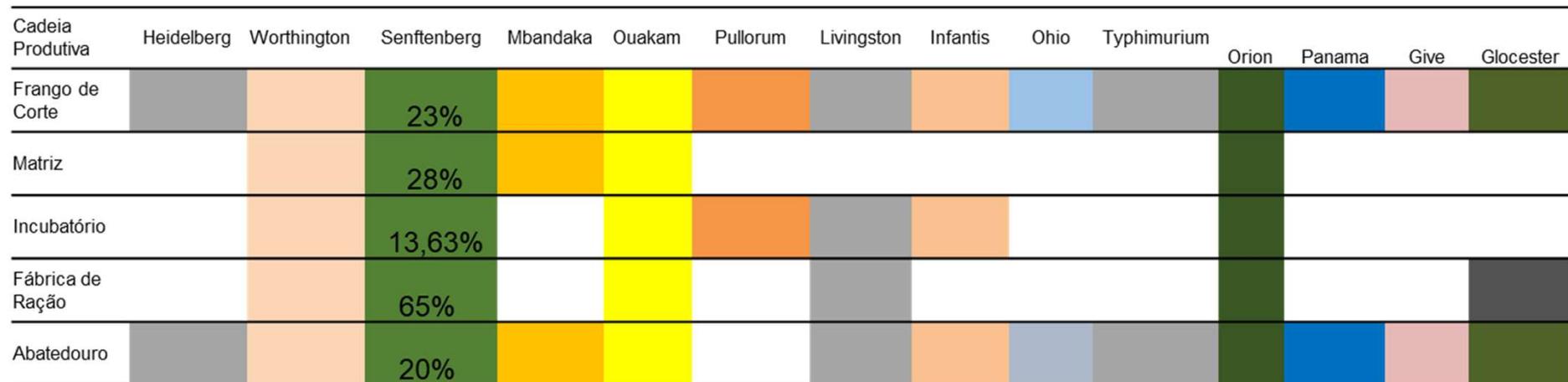
## Necesidad clara del mercado: la detección temprana y la rápida trazabilidad de la contaminación son cruciales: ejemplo de la distribución de serotipos



Conocer la distribución de los serotipos en toda la cadena productiva es esencial para identificar la fuente de contaminación. Distintos serotipos tienen un diferente impacto en el producto final

La trazabilidad permite **identificar los puntos débiles** y definir objetivos. Se recomienda comprobar periódicamente estos puntos críticos

## Necesidad clara del mercado: la detección temprana y la rápida trazabilidad de la contaminación son cruciales: huella dactilar (genética)



Nuestro método ha probado ser una herramienta imprescindible para tomar las “huellas dactilares genéticas” de la Salmonella en una cadena de producción (prevalencia de serotipos), y es altamente discriminatorio entre los aislados de Salmonella

### *Evaluación de riesgos:*

Ciertos serotipos de Salmonella se asocian con enfermedades más graves o un mayor riesgo de transmisión. Al saber qué cepa está presente, las empresas pueden evaluar el nivel de riesgo para la salud pública y tomar las medidas adecuadas (por ejemplo, mejorar los protocolos sanitarios, mejorar las prácticas de abastecimiento o cambiar los procesos de producción).

### *Investigación y prevención:*

la serotipificación ayuda en los esfuerzos de vigilancia continuos para identificar cepas emergentes de Salmonella que pueden representar nuevos riesgos para la seguridad alimentaria. Esto permite a las empresas implementar intervenciones específicas y mejorar las prácticas de seguridad alimentaria a largo plazo.



Para reducir Salmonella no existe:

- una bala mágica
- un producto químico especial
- un Antibiótico 007
- probióticos o extractos de plantas específicos

## La Solución:



- **MONITOREO INTELIGENTE** – muestreo y análisis bacteriológicos
- Evitar resultados falsos negativos: desperdicio de esfuerzos, dinero y motivación
- Serotipar o genotipar cepas de Salmonella, para indicar las fuentes de contaminación
- Higiene intensiva, hasta el producto final
- Separación de los lotes s-positivos

Y sobre todo, **EL FACTOR HUMANO**, todos juntos con:

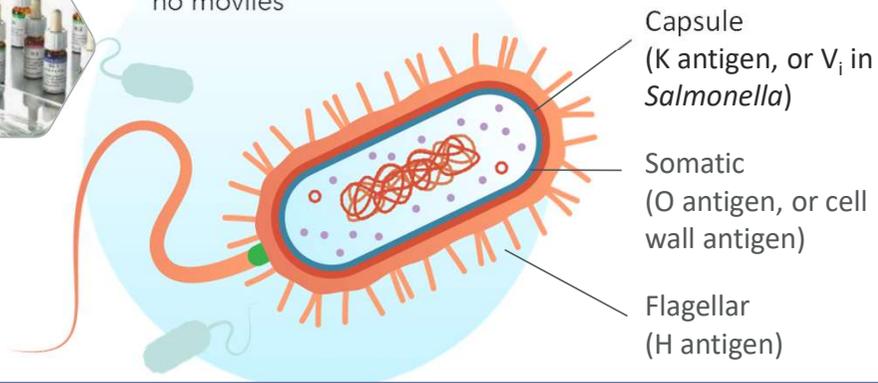
- SANGRE**, inversión de la empresa
- SUDOR**, trabajo duro y dedicación de todos los involucrados
- LÁGRIMAS**, consolidación cuando ocurren fallos

Cualquiera que sea la estrategia de intervención para el control, reducción o erradicación, el esfuerzo debe comenzar siempre por la detección de Salmonella y por esto los métodos de detección deben ser sensibles y confiables.

## Tecnología de vanguardia: Serotipado mediante diferencias en la secuencia de ADN

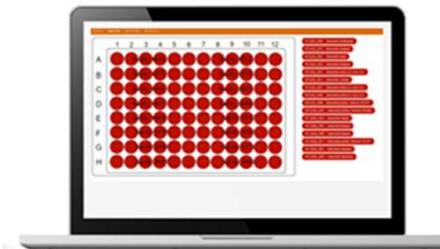
### Método estándar de serotipado fenotípico

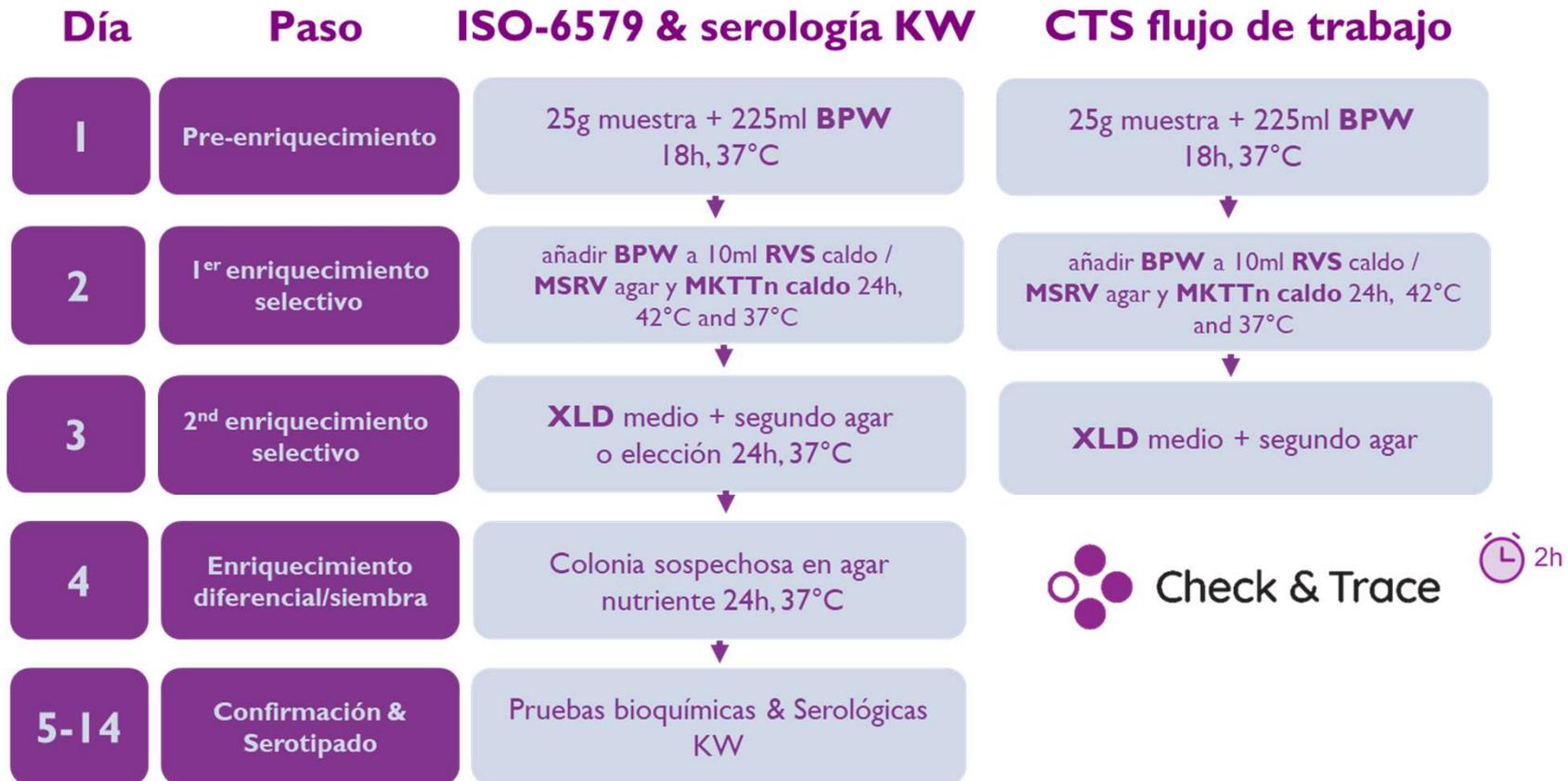
- Depende de las expresiones fenotípicas de los antígenos:  $\pm 10\%$  no tipificable
- Tiempo de respuesta: desde 2 hasta 5+ días
- Subjetividad en la interpretación de los resultados (lectura de aglutinación visual)
- Experiencia requerida (difícil de aprender)
- Requiere el uso de más de 150 antisueros específicos con diferentes calidades entre proveedores
- Pueden producirse reacciones falsas positivas como resultado de una aglutinación débil o inespecífica
- No se pueden serotipar correctamente salmonellas no móviles



## Check & Trace Salmonella

- ✓ Resultados objetivos (interpretación automatizada)
- ✓ Un único test y un único proveedor de reagentes
- ✓ Serotificación molecular ofrece un mayor poder discriminatorio y sensibilidad
- ✓ 30 targets de genomas de *Salmonella*
- ✓ Resultados en 2 horas





## YOUR DETECTION TOOL OF CHOICE

**Check Trace Salmonella 2.0** es una prueba RT-PCR cualitativa semiautomática diseñada para la rápida confirmación y tipificación de presuntos aislamientos de Salmonella a partir de medios de cultivo enriquecidos, que proporciona una alternativa específica a los métodos convencionales.

Desarrollado para simplificar el proceso de identificación de Salmonella.

La rápida respuesta del ensayo acorta el tiempo de respuesta en caso de un brote

Con la información sobre los serotipos de Salmonella, los profesionales de la seguridad alimentaria pueden comenzar a rastrear y detectar serotipos recurrentes de Salmonella y potencialmente vincular un evento de contaminación con una fuente.

Esto tiene implicaciones rotundas para mapear un proceso de fabricación y tomar decisiones más rápidas y mejor informadas que impacten no solo la seguridad del consumidor, sino también la eficiencia operativa y el resultado final.



# Check & Trace Salmonella 2.0 (qPCR) flujo de trabajo



Step	01	02	03
	Sample prep	Setup + PCR	Analysis
Equipment required	<ul style="list-style-type: none"> <li>Heating block</li> <li>Vortex mixer</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>CTS Analysis Portal</li> <li><b>Centrifuge for 12-tubes-PCR strips or PCR-plate</b></li> <li>Thermocycler (Bio-Rad CFX96 or CFX Opus 96) + Software</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>CTS analysis Portal (cloud-based)</li> </ul>
Total time per step*	30 min	90 min	5 min
Hands-on time per step*	20 min	20 min	1 min



\* Subject to variation depending on the number of samples analyzed. Approx. time for 8 samples. Trademarks: Bio-Rad®, CFX96™ (Bio-Rad Laboratories, Inc.)

# Check & Trace Salmonella 2.0 - flujo de trabajo Paso a paso

Acceder al Portal de Análisis Check & Trace online:  
[analysis.check-points.com](https://analysis.check-points.com)

- Generar una lista de trabajo y sesión de PCR
- Imprimirla para posteriormente preparar las muestras en el laboratorio

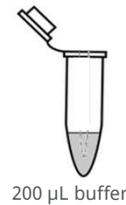
Layout report for CHECP 22091431701  
Printed on 08/09/2022 13:06  
Plus version: 01 CHECP 22091431701 wells custom ID  
Lot number: Not available system: CHECP and Trace



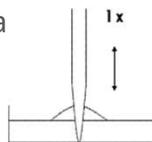
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Dummy strip										Dummy strip	
B		Tempo 1										
C												
D												
E												
F												
G												
H	Dummy strip										Dummy strip	

## 1 Preparación muestra

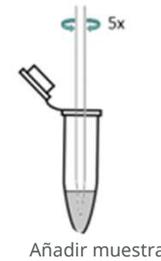
**A)** dispensar 200  $\mu$ L del Buffer en un tubo Eppendorf de 1,5 ml



**B)** Seleccionar una única colonia bacteriana usando el palillo esteril de muestreo



**C)** Introduzca el palillo de muestreo en el tubo con el Buffer y gírelo varias veces entre el dedo pulgar y el índice



Incubar durante 10 minutos a 98 °C

## 2 Amplificación (Prep e inclusión en PCR)

**A)** Dispensar 35  $\mu$ L del master mix en un tubo Eppendorf de 1,5 ml



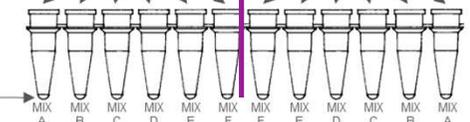
**B)** Agregar al master mix (35 $\mu$ L) 140  $\mu$ L del lisado bacteriano y mezclarlo bien con la pipeta.



**C)** Transferir 25  $\mu$ L del master mix/muestra a la tira de PCR 1-6 y 7-12 de acuerdo con la lista de muestreo obtenida en el portal.



Specific primers and probes  
MIX A, B, C, D, E, and F



**D)** Correr el PCR

## Check & Trace Salmonella 2.0 - flujo de trabajo Paso a paso

Acceder de nuevo al portal de Análisis Check & Trace online: [analysis.check-points.com](https://analysis.check-points.com)

- Enter the verification code received by email when the message "Login verification required" appears.

### 3 Detección (procesamiento de datos y análisis)

**A)** Seleccione la sesión de ejecución del experimento y haga clic en la pestaña "Cargar archivo de resultados CFX" para cargar el archivo .pcrd que contiene los datos de ejecución de PCR correspondientes.

CANCEL **UPLOAD CFX RESULT** DOWNLOAD CFX RUNFILE SAVE RUN SESSION

**B)** Haga clic en la pestaña "Marcar sesión de ejecución para análisis de proveedores" para iniciar el análisis.

DOWNLOAD CFX RUNFILE **MARK RUN SESSION FOR VENDOR ANALYSIS** GO TO DETAILS

**C)** Los resultados aparecen después de 3 minutos y se pueden descargar fácilmente (MS Word/PDF) o exportar (CSF/Excel) a través de la pestaña Informes.



# Certificaciones y aprobación regulatoria

## Check & Trace Salmonella 2.0



hereby declares that the certification assessment has demonstrated that

### Check & Trace Salmonella 2.0 (CTS 2.0)

Manufactured and supplied by:  
Check-Points B.V.  
Binnenhaven 5  
6709 PD Wageningen  
The Netherlands

has been validated and revealed to be at least equivalent to the reference method as demonstrated by the validation study report. The summary of the validation report is available on the MicroVal website: [www.microval.org](http://www.microval.org)

#### Reference methods:

- ISO6579-1:2017 – Microbiology of the food chain – Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella* – Part 1: Detection of *Salmonella* spp.
- ISO/TR 6579-3:2014 - Microbiology of the food chain – Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella* – Part 3: Guidelines for serotyping *Salmonella* spp.

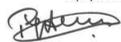
Scope: Confirmation of presumptive *Salmonella* isolated on non selective NA and selective XLD agar and typing of 59 *Salmonella* serovars

The validation and certification has been performed in accordance with EN ISO 16140-6:2019 and the MicroVal Rules and Certification Scheme version 9.1.

This certificate is only valid in conjunction with attachment Conclusions MCS ILS CTS 2.0 v3.

Certificate no.: 2021LR107

First approval date: 2 December 2022  
Expiry date: 1 December 2026



ISSUED BY: LRQA Nederland B.V.  
Rotterdam, The Netherlands

Certificate no.: 2021LR107

09-01-2023

Page 1 of 1

George Hintzenweg 77, 3068 AX Rotterdam, The Netherlands. KvK nr.: 24247948

This approval is carried out in accordance with the LRQA assessment and certification procedures and monitored by LRQA.

- ✓ **Certificado por Microval** para la confirmación y tipado de Salmonella.
- ✓ Check&Trace Salmonella 2.0 ha sido validado con éxito según el protocolo ISO 16140/6 para 59 serotipos únicos y puede ser utilizado por cualquier laboratorio como alternativa a ISO 6579-1 e ISO 6579-3, para la confirmación y tipificación de Salmonella.



- ✓ **Certificación AOAC:**
- ✓ Según lo determinado por el estudio de inclusión, Check&Trace Salmonella 2.0 demostró ser eficaz para detectar especies de Salmonella y tipificar 59 serovares de Salmonella.
- ✓ **Número de licencia:** 072301





# Check & Trace

## Check & Trace® 2.0 Salmonella

RT-PCR para la confirmación y tipificación de cepas aisladas de Salmonella procedentes de muestras de producción primaria y calidad ambiental. Uso veterinario.

HCMR-0216  
Nº de Reg. Pendiente de asignación



Werfen España, S.A.U.  
Plaza de Europa, 21-23  
08908 L'Hospitalet de Llobregat (Barcelona)

## Check & Trace® 2.0 Salmonella

RT-PCR para la confirmación y tipificación de cepas aisladas de Salmonella procedentes de muestras de producción primaria y calidad ambiental. Uso veterinario.

HCMR-0216  
Nº de Reg. Pendiente de asignación



Werfen España, S.A.U.  
Plaza de Europa, 21-23  
08908 L'Hospitalet de Llobregat (Barcelona)

## Check & Trace® 2.0 Salmonella

RT-PCR para la confirmación y tipificación de cepas aisladas de Salmonella procedentes de muestras de producción primaria y calidad ambiental. Uso veterinario.

HCMR-0216  
Nº de Reg. Pendiente de asignación



Werfen España, S.A.U.  
Plaza de Europa, 21-23  
08908 L'Hospitalet de Llobregat (Barcelona)

## Check & Trace® 2.0 Salmonella

RT-PCR para la confirmación y tipificación de cepas aisladas de Salmonella procedentes de muestras de producción primaria y calidad ambiental. Uso veterinario.

HCMR-0216  
Nº de Reg. Pendiente de asignación



Werfen España, S.A.U.  
Plaza de Europa, 21-23  
08908 L'Hospitalet de Llobregat (Barcelona)

## Check & Trace® 2.0 Salmonella

RT-PCR para la confirmación y tipificación de cepas aisladas de Salmonella procedentes de muestras de producción primaria y calidad ambiental. Uso veterinario.

HCMR-0216

## Check & Trace® 2.0 Salmonella

RT-PCR para la confirmación y tipificación de cepas aisladas de Salmonella procedentes de muestras de producción primaria y calidad ambiental. Uso veterinario.

HCMR-0216



31-07-2023.

- ✓ Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación
- ✓ autorización para aves de corral y muestras ambientales de producción primaria
- ✓ Registro de Prod Zoosanitarios. Nº Trámite: 23-0536. Autorización Producto RD. Check & Trace Salmonella 2.0



## Check & Trace Salmonella 2.0 - serovars certificados



Abaetetuba	Choleraesuis	Havana	Molade	Paratyphi B. (Java)	Tennessee
Agona	Corvallis	Heidelberg	Montevideo	Poona	Thompson
Alachua	Cubana	Idikan	Muenchen	Pullorum	Typhimurium
Albany	Derby	Infantis	Muenster	Reading	Typhimurium monophasic (1,4,[5],12:i:-)
Anatum	Dublin	Javiana	Newport	Rissen	Uganda
Bovismorbificans	Enteritidis	Kentucky	Ohio	Saintpaul	Virchow
Braenderup	Gallinarum	Livingstone	Oranienburg	Sandiego	Worthington
Brandenburg	Give	London	Orion	Schwarzengrund	Yoruba
Bredeney	Goldcoast	Mbandaka	Ouakam	Senftenberg	4,[5],12:d:-
Cerro	Hadar	Minnesota	Panama	Stanley	

### Próximamente

Aberdeen	Bareilly	Emek	Hvittingfoss	Kiambu	Manhattan	Soerenga
Abortusovis	Berta	enterica 47:z4,z23:-	Indiana	Kingston	Meleagridis	S. bongori (V)
Adelaide	Blockley	Fresno	Isangi	Kottbus	Nottingham	Taksony
Agama	Bracknell	Gaminara	Jerusalem	Lexington	Offa	Urbana
Altona	Chailey	Gloucester	Johannesburg	Litchfield	Ordenez	Weltevreden
Amsterdam	Chester	Haifa	Kapemba	Liverpool	Putten	
Banana	Eastbourne	Hartford	Kedougou	Llandoff	Ruiru	



Es una plataforma abierta que ofrece la oportunidad de agregar más serovars en el scope de la prueba cuando se solicite.



**Table 7. Summary of results for confirmation**

	Number of strains	Medium	PCR system	IA*	ID*	EA*	ED*
<b>Inclusivity</b>	150	NA	Biorad CFX 96	150	0	na	na
		XLD		150	0		
		NA	CFX Opus 96	150	0		
		XLD		150	0		
<b>Exclusivity</b>	102 (100 + 2)	NA	Biorad CFX 96	na	na	102	0
		XLD				96**	0
		NA	CFX Opus 96			102	0
		XLD				96**	0

\* IA: inclusivity agreement, ID: inclusivity deviation, EA: exclusivity agreement, ED: exclusivity deviation

\*\* For some strains there was no growth on XLD (see Table 5)

No discrepancies between this data and the alternative method result were found.

**Table 8. Summary of results for typing**

	Number of strains	Medium	PCR system	IA*	ID*	EA*	ED*
<b>Inclusivity</b>	315 (295 + 20)	NA	Biorad CFX 96	309**	0	na	na
		XLD		305**	0		
		NA	CFX Opus 96	309**	1		
		XLD		307**	1		
<b>Exclusivity</b>	104 (100 + 4)	NA	Biorad CFX 96	na	na	104**	0
		XLD				102**	0
		NA	CFX Opus 96			104**	0
		XLD				103**	0

\* IA: inclusivity agreement, ID: inclusivity deviation, EA: exclusivity agreement, ED: exclusivity deviation

\*\* For some strains there was no growth on XLD (see Table 5). Some inconclusive results were found (See Table 6).