

# Determinación de *Salmonella spp.* por PCR en tiempo real y método convencional en canales de bovinos y en alimentos de la vía pública de Montería, Córdoba

Detection of *Salmonella spp.* by real time PCR and standard methods in cattle carcasses and public fast food outlets in Montería, Córdoba

Edna Yáñez<sup>1</sup>, Salim Máttar\*<sup>2</sup>, Alba Durango<sup>1</sup>

## Resumen

**Objetivo.** Detectar *Salmonella spp.* por PCR en tiempo real (PCR-TR) y el método convencional en alimentos de la vía pública y canales de bovino de una planta certificada de beneficio animal con sistema HACCP de Montería.

**Materiales y métodos.** Se analizaron 311 muestras de alimentos: 256 de la vía pública y 55 de una planta de beneficio animal. Los análisis microbiológicos se realizaron por el método estándar convencional y la PCR-TR con *LightCycler® foodproof Salmonella detection kit* (Roche Diagnostics).

**Resultados.** Se aisló *Salmonella spp.* en 16,1% de las muestras. La prueba de  $\chi^2$  mostró significancia estadística entre las técnicas ( $p < 0,001$ ); se obtuvo 68% de casos positivos con la PCR-TR y 48% con el método convencional. Los alimentos expendidos en la vía pública que presentaron mayor contaminación por *Salmonella spp.* fueron: chorizos, con 28,1% por

PCR-TR y 12,3% por el método convencional; quesos, con 18,4% por PCR-TR y 5,3% por el método convencional; cerdo, con 23,1% por PCR-TR y 15,4% por el método convencional, y carne molida, con 9,3% por PCR-TR y 15,6% por el método convencional. En canales de bovinos la presencia de *Salmonella spp.* fue de 1,8%. Se observó diferencia con respecto al tiempo empleado por cada una de las técnicas: la de PCR-TR permitió obtener resultados a las 24 horas, en comparación con los cuatro días del método convencional.

**Conclusiones.** PCR-TR es una valiosa alternativa para determinar *Salmonella spp.*, en alimentos por su especificidad y rapidez. También es importante la alta presencia de *Salmonella* en los alimentos callejeros representa un problema de salud pública para los consumidores.

**Palabras clave:** *Salmonella*, alimentos, PCR tiempo real (RT-PCR), carnes, HACCP.

**Correspondencia:** Salim Máttar V., Ph.D., Universidad de Córdoba, Instituto de Investigaciones Biológicas del Trópico, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Montería, Córdoba. Correo: mattarsalim@hotmail.com

Fecha de recepción: 11/02/2008  
Fecha de aceptación: 28/11/2008

1 Universidad de Córdoba, Facultad de Ciencias Agrícolas, Departamento de Ingeniería de Alimentos, Montería, Colombia

2 Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Instituto de Investigaciones Biológicas del Trópico, Montería, Colombia

## Abstract

**Objective:** To establish *Salmonella spp.* by real-time PCR (RT-PCR) and standard microbiological method in public fastfood outlets and cattle carcasses from a profit animal plant (PBA-slaughterhouse) certified with the HACCP system in the city of Montería.

**Materials and methods:** 311 food samples were analyzed: 256 from public fastfood outlets and 55 from a PBA (slaughterhouse). The microbiological tests were conducted by the standard method, the molecular detection RT-PCR was carried out by LightCycler® foodproof Salmonella detection kit (Roche Diagnostics).

**Results:** *Salmonella spp.* was isolated in 16.1% of the samples. The 2 test showed statistical significance between techniques ( $p < 0.001$ ), with RT-PCR was obtained by 68% of positive cases and 48% with the conventional method. The fastfood sold in public streets had higher contamination by *Salmonella spp.* SausageS had Salmonella in 28.1% of the samples by RT-PCR and 12.3% by the conventional method; cheese, 18.4% by RT-PCR, and 5.3% by the conventional method; pork meat, 23.1% by RT-PCR, and 15.4% by the conventional method, and ground meat, 9.3% by RT-PCR, and 15.6% by the conventional method. Cattle carcasses showed a 1.8% of *Salmonella spp.*, a significant difference was observed with respect to spent time for each technique, RT-PCR yielded results within 24 hours as compared to four days for the conventional method.

**Conclusions:** The study showed that RT-PCR is a valuable alternative to determine *Salmonella spp.* in foods for their specificity and promptness, furthermore, the high presence of Salmonella in public fastfood outlets is a public health problem for consumers.

**Key words:** Salmonella, food, real time PCR (RT-PCR), meats, HACCP.

## Introducción

La salmonelosis es una zoonosis de distribución mundial. Las infecciones por *Salmonella spp.* pueden causar pequeños brotes en la población; entre 60% y 80% de los casos son esporádicos; a veces se producen grandes brotes en hospitales, jardines infantiles, hogares geriátricos y restaurantes <sup>(1)</sup>. En Colombia, en el año 2005, se reportaron por el Sistema Nacional de Vigilancia en Salud Pública, SIVIGILA (Ministerio de la Protección Social, Instituto Nacional de Salud) 7.941 casos de enfermedades transmitidas por alimentos. Los productos alimenticios comúnmente asociados a los brotes fueron: pescados (22%), agua (20%) y carnes de ganado (14%). Según los datos, *Salmonella spp.*, fue la bacteria que más brotes causó, con un 20% del total de los reportados <sup>(2)</sup>. Estudios previos realizados en la ciudad de Montería, han reportado un 10.3% de *Salmonella spp.*, en alimentos de ventas callejeras y de plazas en mercados <sup>(3)</sup>.

La vigilancia de este patógeno en todas las etapas en la cadena de procesamiento de alimentos, constituye un elemento importante en la investigación de la epidemiología de la salmonelosis. El mercado nacional e internacional, para proteger la salud de sus compradores, exige que todos los productos de consumo estén libres de patógenos como *Salmonella spp.* <sup>(4)</sup>.

Se han hecho grandes esfuerzos en materia de prevención para el control de las enfermedades transmitidas por alimentos por parte de las industrias y de las entidades encargadas del control. Muchos países, como Estados Unidos, Canadá y Colombia, tienen establecido dentro

de su legislación “cero tolerancia” para este patógeno<sup>(5)</sup>. En función de dicha legislación, es necesario implementar técnicas rápidas y muy sensibles en el control de la industria, antes de la liberación de los alimentos al mercado. La implementación de los métodos moleculares es necesaria, ya que las técnicas microbiológicas convencionales toman de 4 a 6 días para la detección y la identificación de *Salmonella spp.*<sup>(6-8)</sup>.

El avance en la biotecnología ha permitido el desarrollo de diversos métodos alternativos, los cuales proporcionan ventajas en cuanto a eficiencia, sensibilidad y disminución del tiempo de detección. Estos métodos rápidos, por estar basados en la determinación de ácidos nucleicos, tienen la potencialidad de ser muy específicos. Tal es el caso de la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y la técnica PCR-TR (*real time PCR*), ambas tecnologías moleculares basadas en la amplificación *in vitro* del ADN; esta última tiene la ventaja de que lleva a cabo simultáneamente los procesos de amplificación y detección en el mismo vial y que determina la cantidad de ADN sintetizado en cada momento de la reacción<sup>(9-16)</sup>.

El objetivo de este trabajo fue determinar la presencia de *Salmonella spp.* en canales de bovinos de una empresa procesadora de carnes con sistema HACCP (*Hazard Analysis and Critical Control Points*) y en alimentos expendidos en la vía pública, mediante la técnica PCR-TR y el método convencional.

## Materiales y métodos

**Tipo de estudio y localización.** El estudio fue descriptivo. La investigación se llevó a cabo en el Instituto de Investigaciones Biológicas del Trópico adscrito a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de Córdoba.

Cálculo del tamaño de las muestras de los alimentos de la vía pública. Para calcular el tamaño de la muestra, se tuvieron en cuenta los datos suministrados por la Cámara de Comercio que informó que, hasta el 2001, se tenían inscritos 300 restaurantes en Montería. Debido a que no existían datos recientes del DANE sobre el número de ventas callejeras que se encuentran en los diferentes puntos de la ciudad, se aumentó en 10% el número de ventas callejeras y se estableció una muestra total de 330 establecimientos.

Para calcular el tamaño de la muestra se tomaron los siguientes parámetros: frecuencia esperada de contaminación alimentaria de 15%, error máximo aceptable de 1% y nivel de confianza de 99,0% (Epi-Info, CDC, GA, Atlanta, USA, versión 6.0, 2002). Se empleó un muestreo no probabilístico por conveniencia, conformado por 256 muestras de alimentos tomados de diferentes sitios de ventas de comidas callejeras de Montería. De los alimentos analizados, algunos estaban listos para consumir (26,6%), a excepción de las carnes crudas de res, pollo y cerdo (73,3%).

Cálculo del tamaño de las muestras de los alimentos en la planta de beneficio animal. Para calcular el tamaño de la muestra se tuvieron en cuenta las normas establecidas por la empresa, la cual autorizó la toma de 20% del total de número de animales sacrificados, cuyo promedio mensual fue de 280 reses. Se empleó un muestreo no probabilístico por conveniencia.

**Tamaño y recolección de la muestra.** Los alimentos analizados en este estudio fueron canales de bovinos y productos elaborados a base de carne de res, cerdo y queso. Se analizaron 311 muestras, de las cuales, 256 (82,3%) pertenecían a alimentos de la vía pública y 55 (17,7%) a canales de bovino beneficiados en

una planta de beneficio animal certificada con el sistema HACCP. Las muestras de canales bovinos fueron tomadas durante el proceso de sacrificio, en la etapa de refrigeración, realizando un corte de tejido en la espalda y en el pecho de las canales; esta etapa es catalogada como un punto crítico de control dentro del análisis de peligros para la implementación del HACCP en la planta de beneficio animal.

**Procedimiento microbiológico para el aislamiento de *Salmonella spp.*** El aislamiento y la identificación se hicieron según los protocolos convencionales previamente descritos<sup>(3)</sup>. Se pesaron 25 g de cada muestra y se inocularon en 225 ml de agua con peptona, la cual se incubó a 37 °C durante 24 horas. A partir de éste, se inoculó 1 ml de cada muestra en 10 ml de caldo Rappaport y tetratoato (Oxoid, Basingstoke, UK). Posteriormente, se cultivaron en agar XLT4, Salmonella-Shigella-SS, Hektoen, dexosicolato de lisina y xilosa-XLD (Oxoid, Basingstoke, UK), los cuales se incubaron a 37 °C por 24 horas. Las colonias sospechosas se identificaron con pruebas bioquímicas convencionales y pruebas serológicas bajo el esquema rutinario de Kauffman-White<sup>(3)</sup>.

**Procedimiento PC-TR.** Para la extracción del ADN se pesaron 25 g de cada muestra y se inocularon en 225 ml de agua con peptona, la cual se incubó a 37 °C durante 24 horas. A partir de éste, se transfirieron 50 µl de cada muestra a los tubos de microcentrifuga que contenían la solución de extracción y de lisis<sup>(7)</sup>. Posteriormente, se colocaron en baño de maría por 15 minutos a 87 °C y se dejaron enfriar durante un minuto a 18 °C; luego se centrifugaron a 8.000 rpm durante un minuto para recuperar el ADN purificado (*Shortprep Food Proof Kit*, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany).

Después de extraído el ADN bacteriano directamente del alimento, se tomaron 5 µl del sobrenadante y se le adicionaron 15 µl del PCR mix compuesto por 13 µl de master mix sondas Hybprobe más ADN de salmonella más control interno específico para Salmonella, 1 µl de solución de enzima, 1 µl control interno, la mezcla del ADN y PCR mix se centrifugó a 3.000 rpm durante 3 segundos<sup>(7)</sup>. Los resultados de la amplificación se compararon con un control positivo representado por un estándar de Salmonella incluido en el *kit*<sup>(7)</sup> y un control negativo en el cual el ADN de la muestra fue reemplazado por 5 µl de agua estéril. La técnica de PCR en tiempo real se llevó a cabo según el protocolo *LightCycler® foodproof Salmonella detection kit*<sup>(7)</sup>, el cual consistió en 47 ciclos compuestos por tres pasos, desnaturalización (95 °C por 2 minutos), anillamiento (40 °C por 30 segundos) y amplificación (72 °C por 35 segundos) en el equipo LightCycler 1.5 Instrument (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany)<sup>(7)</sup>.

**Análisis estadístico.** Los datos se recolectaron mediante un formulario estandarizado y se tabularon en una hoja electrónica de MS Excel®. Se utilizaron las herramientas de análisis de datos de este programa para elaborar la estadística descriptiva. Posteriormente, se trasladaron al programa estadístico SPSS® v 13, para el análisis de la significancia de las diferencias encontradas en los métodos comparados (PCR-RT y método convencional), se utilizó la prueba de ji al cuadrado<sup>(2)</sup> con un nivel de significancia de 95%.

## Resultados

De las muestras de alimentos analizadas en este estudio, 24,4% (n=76) eran de carne de res; de éstas, 72,4% (n=55) se tomaron de las

canales bovinas de la planta de beneficio animal y 27,6% (n=21) se tomaron de alimentos callejeros. El 18,3% (n=57) fueron muestras de chorizo, el 15,7% (n=49) de empanada de carne, el 12,2% (n=38) de queso, el 10,2% (n=32) de carne molida, el 4,5% (n=14) de papa y otros, el 4,2% (n=13) de cerdo, el 3,8% (n=12) de carne salada y el 1,9% (n=6) de empanada de pollo.

Según el análisis estadístico de chi cuadrado  $\chi^2$ , las técnicas utilizadas para determinar *Salmonella spp.* en los alimentos mostraron diferencia significativa ( $p < 0,001$ ). En la tabla 1 se muestra la distribución de los aislamientos de *Salmonella spp.* por tipo de alimento y método de aislamiento utilizado; el método convencional reveló un total de 23/311 positivos para *Salmonella spp.*, mientras que la técnica PCR-TR mostró un total de 34/311 casos positivos. Del total de muestras analizadas, sin impor-

tar el origen y el tipo de alimento, se obtuvo una frecuencia de *Salmonella spp.* de 16,1% (50/311), ya que 7 fueron positivas por los dos métodos; con respecto a los casos positivos, la PCR-TR mostró una especificidad de 68%, mientras que para el método convencional, fue de 46%.

Debido a que el tamaño de las muestras de cada alimento no era el mismo para cada uno de ellos, no se logró determinar cuál fue el mejor método utilizado por tipo de alimento. El origen de las muestras con respecto al número de casos positivos, independientemente de la técnica utilizada, mostró diferencias significativas ( $p < 0,001$ ): la planta de beneficio animal, certificada con sistema HACCP, una *Salmonella* detectada, y las ventas callejeras, 49 microorganismos detectados.

Tabla 1. Distribución de los aislamientos de *Salmonella spp.* por tipo de alimento y método de aislamiento utilizado

Origen de las muestras	Muestra	N	Método convencional		PCR-TR	
			(+)	%	(+)	%
Alimentos en la vía pública	Chorizo	57	7	12,3	16	28,1
	Empanada de carne	49	2	4,1	2	4,1
	Queso	38	2	5,3	7	18,4
	Carne molida	32	5	15,6	3	9,3
	Carne de res	21	-	-	1	4,7
	Papa rellena con carne	14	1	7,1	0	-
	Cerdo	13	2	15,4	3	23,1
	Carne salada	12	3	25	2	16,6
	Carimañola	6	0	-	0	-
	Empanada con pollo	6	0	-	0	-
	Carne cocida	3	0	-	0	-
	Quibbe	3	0	-	0	-
	Hígado	1	0	-	0	-
	Palitos de queso	1	0	-	0	-
PBA (HACCP)	Carne de res	55	1	1,8	0	-
<b>Total</b>		<b>311</b>	<b>23</b>	<b>7,4</b>	<b>34</b>	<b>10,9</b>

También, el tiempo requerido por cada técnica en la determinación de *Salmonella spp.* mostró diferencia significativa ( $p < 0,001$ ). La técnica de PCR-TR se tardó en promedio 24 horas, en contraste con el método convencional que tardó entre 4 y 5 días.

## Discusión

Esta determinación de *Salmonella spp.* en carne y productos cárnicos por técnicas de biología molecular, como el PCR-TR, es el primer trabajo de campo realizado en un área como el departamento de Córdoba, que es el principal proveedor de carne bovina en Colombia. La industria de producción de carnes es un sector importante en el país, que representa el 1,8% del PIB generado por el total de la industria manufacturera nacional y el 6,8% de la industria de alimentos. En el 2005, se produjeron en Colombia 1'697.613 toneladas de carne; 48% de este volumen correspondió a carne de res, con cerca de 809.000 toneladas producidas ese año <sup>(8)</sup>.

La importancia de generar productos inocuos radica en la posibilidad de comercializarlos con un margen de certeza sobre su procedencia y calidad sanitaria, lo cual se traduce en un grado razonable de confianza de los consumidores hacia los productos que adquieren. Además, se incrementa la probabilidad de acceder exitosamente a mercados cada vez más competitivos y exigentes. La presencia de microorganismos patógenos en alimentos y las enfermedades producidas por los mismos es uno de los problemas esenciales y crecientes en salud pública, debido al incremento en su frecuencia, el surgimiento de nuevas formas de transmisión, la aparición de grupos de población vulnerables y el impacto socioeconómico que ocasionan <sup>(9)</sup>.

Al comparar los resultados obtenidos en el trabajo por el método convencional con otros estudios realizados en Colombia y en otros países de América Latina y del Caribe que utilizaron la misma metodología, se encontró que son iguales a los reportados por Durango *et al.* <sup>(3)</sup>, quienes aislaron *Salmonella spp.* en 7,4% de las muestras de alimentos del Caribe colombiano. Sin embargo, son más bajos que los de Carrascal *et al.* <sup>(18)</sup> quienes aislaron *Salmonella spp.* en 2,08% en la misma región y el de Caballero *et al.* <sup>(19)</sup> en Cuba quienes aislaron *Salmonella spp.* en 3,5% de las muestras de alimentos callejeros. En contraste, en México, Bello *et al.* <sup>(20)</sup> aislaron *Salmonella spp.* en 32,44% de las muestras de carnes crudas y Hernández *et al.* <sup>(21)</sup> aislaron *Salmonella spp.* en 11% de las muestras de canales bovinas.

Con respecto al uso de la PCR-TR para la detección rápida de *Salmonella spp.*, directamente de alimentos, al comparar los resultados obtenidos por la técnica de PCR-TR con otros estudios realizados en el mundo, se encontró que son inferiores a los reportados por Malorny *et al.* <sup>(10)</sup>, Daum *et al.* <sup>(11)</sup> y Chen *et al.* <sup>(12)</sup>, quienes aislaron *Salmonella spp.* en 25,5%, 11% y 30,9%, respectivamente, en muestras de alimentos de Estados Unidos y Canadá. Sin embargo, son muy similares a los resultados obtenidos por Kimura *et al.* <sup>(13)</sup> quienes aislaron *Salmonella spp.* en 10% de muestras de carne cruda en Japón.

Las ventajas de la PCR-TR en la detección e identificación de bacterias causantes de enfermedades transmitidas por alimentos, radican en la sensibilidad, especificidad y capacidad para procesar grandes cantidades de muestras en poco tiempo <sup>(12)</sup>. En ese sentido, este trabajo demostró una alta especificidad y excelente rapidez debido al corto tiempo utilizado para la detección de *Salmonella spp.*,

dato importante para la industria de plantas de beneficio animal que podría incursionar en el mercado internacional.

La obtención de los resultados con respecto a la variable del tiempo son similares a los reportados por Alcazar *et al.* <sup>(22)</sup> quienes utilizaron la técnica de PCR para detectar *Salmonella spp.* en quesos en 28 horas. No obstante, Daum *et al.* <sup>(11)</sup> reportaron, por el uso de la misma técnica en sólo 3 horas, la detección de este patógeno directamente a partir de canales de pollo, sin pre-enriquecimiento.

Un caso positivo de *Salmonella spp.* en 55 canales bovinas (1,8%) provenientes de la planta de beneficio animal, fueron similares a los reportados por Korsak *et al.* <sup>(23)</sup> en Bélgica, quienes no detectaron *Salmonella spp.* por el método convencional en 240 canales de bovinos. En contraste, Hernández *et al.* <sup>(21)</sup> reportaron la presencia de *Salmonella spp.* en 11% por el método convencional en canales bovinas en México.

De acuerdo con la legislación colombiana <sup>(5)</sup>, la prevalencia de 1,8% *Salmonella spp.* en la planta de beneficio animal (dada por un resultado positivo), está dentro de los parámetros permitidos para satisfacer el estándar de desempeño de *Salmonella*. Esto es muy importante en una empresa, ya que cumplir con los requisitos de estándar de desempeño de reducción de patógenos para *Salmonella*, es indicativo de que los controles de proceso implementados son adecuados para garantizar la inocuidad de los productos.

Igualmente, estos resultados demuestran que el sistema de aseguramiento de la calidad implementado (HACCP) en la planta de beneficio animal, está funcionando correctamente y que el punto crítico de control evaluado (eta-

pa de refrigeración) está siendo controlado, garantizando con ello la inocuidad de la carne en canal. Sin embargo, la planta de beneficio animal está empeñada en que no existan casos positivos de *Salmonella*, debido a la necesidad que se tiene de incursionar en mercados internacionales donde se deben tener márgenes de seguridad con resultados por debajo de lo permitido <sup>(5)</sup>.

Aunque la técnica de PCR-TR es la más específica y sensible entre las disponibles actualmente <sup>(6-8,10-14)</sup>, existen diferencias microecológicas importantes en la industria de plantas de beneficio animal y los alimentos callejeros, como carne molida, papa con carne y carne salada. A pesar de que se realizaron diluciones de estos alimentos con el fin de descartar inhibiciones, resultó mayor la detección de *Salmonella spp.* por el método convencional que por PCR-TR. Esto pudo deberse a la presencia de sustancias en el alimento que ejercen un efecto inhibitorio sobre la PCR. Entre los muchos compuestos identificados que ejercen un efecto negativo sobre la PCR, se encuentran algunos polisacáridos, grasas, iones metálicos y proteínas <sup>(22,24)</sup>. Varios autores han reportado la existencia de tales inhibidores en muestras de alimentos, los cuales pueden actuar a diferentes niveles durante el proceso de extracción y amplificación de los ácidos nucleicos y, eventualmente, conducir a la obtención de falsos negativos; por esto se deben tomar precauciones para impedir o limitar su efecto sobre la reacción, principalmente en el proceso de extracción de ADN <sup>(22, 24)</sup>. Este estudio tuvo la limitación de que no evaluó los efectos inhibitorios, debido a que no era su objetivo. Sin embargo, muchos de los alimentos analizados poseían un contenido alto en grasas. Infortunadamente, no se pudo cuantificar esta variable.

El chorizo y el queso fueron los alimentos que presentaron mayor contaminación por *Salmonella spp.* relacionada posiblemente con su excesiva manipulación y, para el caso del chorizo, con la variedad de ingredientes que se usa en su preparación. Estos hallazgos coinciden con el trabajo de Durango *et al.* <sup>(3)</sup>, quienes reportaron la presencia de *Salmonella spp.* en muestras de chorizo y queso en 12,6% y 7,9%, respectivamente; también, coinciden con lo reportado por Torres *et al.* <sup>(25)</sup>, quienes aislaron esta bacteria en 3,4% de las muestras de embutidos frescos, y por Alcazar *et al.* <sup>(22)</sup>, quienes encontraron un 2,5% de quesos contaminados con *Salmonella spp.*

Los alimentos cárnicos, la carne molida y el cerdo también presentaron un alto grado de contaminación por *Salmonella spp.*, debido al alto grado de manipulación de la carne molida y a las malas condiciones en los sitios de expendio de cerdo y carne molida. Los resultados obtenidos coinciden con los de Bello *et al.* <sup>(22)</sup>, quienes reportaron que 13,76% de las muestras de carne de cerdo y 1,83% de las de carne molida de res resultaron contaminadas por *Salmonella spp.*; esto es igual a los resultados reportados por Durango *et al.* <sup>(3)</sup>, quienes encontraron esta bacteria en 1,6% de las muestras de carne de cerdo.

Aunque este estudio es regional y está circunscrito a una sola ciudad, los resultados muestran el escaso control higiénico sanitario que se tiene en la cadena de procesamiento (recepción de materia prima, elaboración, almacenamiento y comercialización) de los alimentos de la vía pública de Montería, lo que convierte a estos alimentos en un riesgo para la salud de los consumidores, ya que no hay ninguna tolerancia para *Salmonella spp.* en alimentos procesados. De la misma manera, estos resultados evidencian la falta de implementa-

ción de un programa de aseguramiento de calidad para este tipo de alimentos, los cuales se deben regir a nivel nacional por la Resolución 604 de 1993 <sup>(26)</sup>, por el código de prácticas de higiene para la elaboración y expendio de alimentos en la vía pública en América Latina y el Caribe, CAC/RCP 43-1995, del Codex Alimentarius <sup>(27)</sup>, las cuales indican que la inspección deben ser ejercida por la dirección seccional o local de salud, y por las expedidas también en el Decreto 1500 sobre inocuidad <sup>(28)</sup>.

En conclusión, los resultados son promisorios para la implementación de la técnica molecular PCR-TR como una valiosa alternativa para la detección de *Salmonella spp.* en alimentos, por su especificidad y rapidez, sobre todo a la hora distribuir productos inocuos para el mercado consumidor. Por último, independientemente de las técnicas, es preocupante y se constituye en un riesgo para la salud pública la gran frecuencia de *Salmonella spp.* en los alimentos que se venden sin control sanitario en Montería.

**Agradecimientos.** A Nelson Alvis por sus valiosos aportes en el análisis de los datos.

## Referencias

1. Almeida C. Sistemas modernos de inspección y control de alimentos. Memorias, Simposio Internacional Salud Pública Veterinaria, Protección Sanitaria y Desarrollo Agropecuario, ICA/FAO, Bogotá, Colombia, 2002. p. 315.
2. Instituto Nacional de Salud. Enfermedades transmitidas por alimentos. Protocolo 2006. (Fecha de acceso: 27 de febrero de 2007). URL disponible en: [http://www.ins.gov.co/pdf/vcsp/Protocolo\\_2006\\_ETAS\\_2007.pdf](http://www.ins.gov.co/pdf/vcsp/Protocolo_2006_ETAS_2007.pdf).
3. Durango J, Arrieta G, Máttar S. Presencia de *Salmonella spp.* en un área del Caribe colombiano: un riesgo para la salud pública. Biomédica 2004;24:89-96.
4. Gálvez E. Calidad e inocuidad en las cadenas latinoamericanas de comercialización de alimentos. FAO 2006. (Fecha de acceso: 15 de agosto de 2007) 14: 1-93. Disponible en: <http://www.fao.org/Ag/ags/subjects/es/agmarket/agsfop14.pdf>.

5. Ministerio de la Protección Social. Reglamento técnico sobre los requisitos sanitarios y de inocuidad de la carne y productos cárnicos comestibles de las especies bovina y bufalina destinados para el consumo humano y las disposiciones para su beneficio, desposte, almacenamiento, comercialización, expendio, transporte, importación o exportación. Bogotá: 2007; Resolución 2905. (Fecha de acceso: 27 de septiembre de 2007). Disponible en: [http://www.invima.gov.co/Invima///normatividad/docs-alimentos/Resolución 2905\\_2007.pdf](http://www.invima.gov.co/Invima///normatividad/docs-alimentos/Resolución_2905_2007.pdf)
6. Schneider A, Grönwald C, Fandke M, Kurth B, Barkowsk S, Berghof-Jäger K. Real-time detection of the genus with the LightCycler System. *Biochemica* 2002;4:19-21. (Fecha de acceso: 20 de marzo de 2007). Disponible en: <http://www.molecular-food-safety-testing.com>.
7. Roche Diagnostics. LightCycler® foodproof Salmonella detection kit. GmbH, Mannheim, Germany, 2004.
8. Rodríguez I, Barrera H. La reacción en cadena de la polimerasa a dos décadas de su invención. *Revista Ciencia UNAL*. 2004;7:323-35.
9. González T, Rojas R. Enfermedades transmitidas por alimentos y PCR: prevención y diagnóstico. *Rev Salud Pub Mex*. 2005;47:388-90.
10. Malorny B. Diagnostic real-time PCR for detection of Salmonella. *Food Applied Environ Microbiol*. 2004;70:7046-52.
11. Daum L, Barnes W, McAvin J, Neidert M, Cooper L, Huff W, et al. Real time PCR detection of Salmonella in suspect foods from a gastroenteritis outbreak in Kerr county, Texas. *J Clin Microbiol*. 2002;40:3050-2.
12. Chen S, Yee M, Griffiths C, Larkin C, Yamashiro R, et al. The evaluation of a fluorogenic polymerase chain reaction assay for the detection of Salmonella species in food commodities. *Int J Food Microbiol*. 1997;35:239-50.
13. Kimura B, Kawasaki T, Fujil J, Kusunoki T, et al. Evaluation of TaqMan PCR assay for detection of Salmonella in raw meat and shrimp. *J Food Prot*. 1999;62:329-35.
14. Rojas R, González T. Detección e identificación de bacterias causantes de enfermedades transmitidas por alimentos mediante la reacción en cadena de la polimerasa. *Rev Bioquímica*. 2006;31:69-76.
15. Sharma V, Carlson S. Simultaneous detection of Salmonella strains and Escherichia coli O157:H7 with fluorogenic PCR and single-enrichment-broth culture. *Appl Environ Microbiol*. 2000;66:5472-6.
16. Lampel K. Improved template preparation for PCR-based assays for detection of food-borne bacterial pathogens. *Appl Environ Microbiol*. 2002;66:4539-42.
17. Martínez H, Acevedo X. La cadena de la carne bovina en Colombia. Una mirada global de su estructura y dinámica. Observatorio Agrocadenas Colombia ICA. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. (Fecha de acceso: 3 de diciembre de 2007). Documento No. 73. Bogotá, D.C., 2004. Disponible en: <http://www.agrocadenas.gov.co>.
18. Carrascal A, Arrieta G, Máttar S. Estudio preliminar de la calidad microbiológica de los alimentos en la Costa Atlántica Colombiana. *Inf Quinc Epidemiol Nac*. 2002;7:163-9.
19. Caballero A, Carrera J, Lengomín M. Evaluación de la vigilancia microbiológica de alimentos que se venden en las calles. *Rev Cubana Aliment Nutr*. 1998;12:7-10.
20. Bello L, Ortiz D, Pérez E, Castro V. Salmonella en carnes crudas: un estudio en localidades del estado de Guerrero. *Salud Pùb Méx*. 1999;32:74-9.
21. Hernández S, Zúñiga A, Sánchez I, Castro J, Román A, Santos E. Condiciones microbiológicas en el proceso de sacrificio en un rastro municipal del estado de Hidalgo, México. *Vet Mex*. 2007;38:187-95.
22. Alcazar C. Detección de *Salmonella spp.* y *Listeria monocytogenes* en quesos frescos y semi-madurados que se expenden en vía pública en la ciudad de México. *Rev Vet México*. 2006;37:417-29.
23. Korsak N. An efficient sampling technique used to detect foodborne pathogens on pork and beef carcasses in nine Belgian abattoirs. *J Food Prot*. 1998;61:535-41.
24. Rossen L. Inhibition of PCR by components of food samples, microbiological diagnosis assays and DNA-extraction solutions. *J Food Microbiol*. 1992;17:37-45.
25. Torres A, Carrera J, Lengomín M. Evaluación de la vigilancia microbiológica de alimentos que se venden en las calles. *Rev Cubana Aliment Nutr*. 1998;12:7-10.
26. Ministerio de Salud. Condiciones sanitarias de las ventas de alimentos en la vía pública. Bogotá 1993; Resolución 604. (Fecha de acceso: 4 de noviembre de 2008). Disponible en: [http://www.invima.gov.co/Invima///normatividad/docs-alimentos/Resolución 604\\_1993.pdf](http://www.invima.gov.co/Invima///normatividad/docs-alimentos/Resolución_604_1993.pdf)
27. Codex Alimentarius. Código de prácticas de higiene para la elaboración y expendio de alimentos en la vía pública en América Latina y el Caribe CAC/RCP 43-1995. (Fecha de acceso: 8 de noviembre de 2008). Disponible en: [http://www.codexalimentarius.net/download/standards/28/RCP\\_043s.pdf](http://www.codexalimentarius.net/download/standards/28/RCP_043s.pdf)
28. Ministerio de la Protección Social. Reglamento técnico sobre el sistema oficial de inspección, vigilancia y control de la carne, productos cárnicos comestibles y derivados cárnicos destinados para el consumo humano y los requisitos sanitarios y de inocuidad que se deben cumplir en su producción primaria, beneficio y desposte, desprese, procesamiento, almacenamiento, transporte, comercialización, expendio, importación o exportación. Bogotá, 2007; Decreto 1500. (Fecha de acceso: 7 de noviembre de 2008). Disponible en: <http://www.minproteccionsocial.gov.co/vbecontent/library/documents/>