

Comparación de dos métodos rápidos para la detección de *Salmonella* spp. con un método convencional

Comparison of two rapid methods for the detection of *Salmonella* spp. with a conventional method

Burgos, Jessica Tatiana; Albert, Claudia Lissette

Jessica Tatiana Burgos

tatianaburgos208@gmail.com

Laboratorio Nacional de Referencia, El Salvador

Claudia Lissette Albert

Laboratorio Nacional de Referencia, El Salvador

Alerta

Ministerio de Salud, El Salvador

ISSN-e: 2617-5274

Periodicidad: Semestral

vol. 2, núm. 1, 2019

ralerta@salud.gob.sv

Recepción: 07 Febrero 2019

Aprobación: 22 Febrero 2019

Publicación: 07 Junio 2019

URL: <http://portal.amelica.org/ameli/journal/419/4191907003/>

DOI: <https://doi.org/10.5377/alerta.v2i1.7524>

Citación recomendada: Burgos J, Alberti C. Comparación de dos métodos rápidos para la detección de *Salmonella* spp. con un método convencional. *Alerta*. 2019;2(1):15-21. DOI: 10.5377/alerta.v2i1.7524

Resumen: Introducción. Uno de los microorganismos relacionados con las enfermedades transmitidas por alimentos a escala mundial es *Salmonella* spp. El control sanitario de este patógeno es una de las principales preocupaciones en salud pública. La detección de *Salmonella* spp. se realiza principalmente por métodos convencionales de cultivo y métodos rápidos automatizados; la diferencia entre ellos se centra en el tiempo de emisión de resultados. Los métodos automatizados son más rápido que los convencionales. Tener los resultados en menos tiempo es importante en salud pública. **Objetivos.** Comparar el desempeño de dos métodos rápidos para la detección de *Salmonella* spp.: el método de reacción de la cadena de la polimerasa *Assurance GDS System* y el inmunoensayo visual VIA TECRA con el método convencional para la detección de *Salmonella* spp. ISO 6579:2002, IDT, considerado de referencia internacional. **Metodología.** Se analizaron 96 muestras de carne fresca de pollo, proveniente de supermercados del área metropolitana de San Salvador. Las muestras fueron analizadas simultáneamente por los tres métodos en estudio. Se realizaron los cálculos de sensibilidad, especificidad, tasa de falsos positivos, tasa de falsos negativos y Chi cuadrado descrito por McNemar. **Resultados.** El método alternativo inmunoensayo obtuvo mejores resultados al compararlos con los del método convencional; se obtuvo un 88 % de exactitud relativa, 88 % de sensibilidad, 86 % de especificidad, 14 % de tasa de falsos positivos y un 12 % de tasa de falsos negativos. Mientras que al realizar la comparación con el método *Assurance GDS System* se obtuvo un 85 % de sensibilidad, 81 % de especificidad, 19 % de tasa de falsos positivos y un 15 % de tasa de falsos negativos. Al evaluar los datos discordantes y aplicar el test de Chi cuadrado se determinó que no existe diferencia significativa entre los métodos evaluados ($P \leq 0,05$). **Conclusiones.** El método alternativo inmunoensayo visual obtuvo los mejores resultados contra el método convencional.

Palabras clave: *Salmonella* spp, comparación de métodos, carne fresca de pollo, PCR, inmunoensayo visual.

Abstract: Introduction. Worldwide, one of the microorganisms related to foodborne diseases is *Salmonella* spp. This pathogen's sanitary control is paramount within public health concerns. *Salmonella* spp. is detected mainly by conventional culture, as well as automated, more agile, methods;

the difference between them is the time lapse in which results are available. Automated methods are faster than conventional methods, obtaining results in less time is important in public health. **Objective.** To compare the performance of two rapid tests for the detection of *Salmonella* spp.: polymerase chain reaction test Assurance GDS System and the VIA TECRA visual immunoassay test, with conventional method for the detection of *Salmonella* spp.: ISO 6579: 2002, IDT, considered as the international reference. **Methodology.** Ninety-six samples of fresh chicken meat, from supermarkets in the metropolitan area of San Salvador, were examined. The samples were analyzed simultaneously using the three methods under study. Sensitivity, specificity, false positive rate, false negative rate and Chi square described by McNemar, were performed. **Results.** The alternative immunoassay method obtained the best results when compared to the conventional method. It obtained 88 % relative accuracy, 88 % sensitivity, 86 % specificity, 14 % false positive rate and 12 % false negative rate. On the other hand, the Assurance GDS System method obtained 85 % sensitivity, 81 % specificity, 19 % false positive rate and 15 % false negative rate. When evaluating the discordant data and applying the Chi-square test, it was determined that there was no significant difference between the methods evaluated ($P \leq 0,05$). **Conclusions.** The alternative visual immunoassay method obtained the best results, when compared to the conventional method.

Keywords: *Salmonella* spp, comparison of methods, fresh chicken meat, PCR, visual immunoassay.

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades transmitidas por alimentos son un serio problema de salud pública. Una de cada diez personas enferman por ingerir alimentos insalubres¹. Garantizar la inocuidad de los alimentos requiere una serie de medidas sanitarias desde la fabricación hasta la mesa². La salud pública implementa estrategias como la vigilancia sanitaria de los alimentos en puntos de comercialización, con el fin de identificar microorganismos patógenos e implementar medidas sanitarias de prevención. Sin embargo, para realizar una adecuada vigilancia se requieren de herramientas, como pruebas de laboratorio, que garanticen una identificación oportuna de los microorganismos en estudio. Estos métodos de análisis deben estar acorde a las necesidades, haciendo un balance entre costo y tiempo de obtención de resultados. La confiabilidad de los resultados obtenidos dependerá de la técnica seleccionada para realizar el análisis (sensibilidad y especificidad)³.

El Laboratorio Nacional de Referencia (LNR) es el encargado de realizar los análisis de laboratorio para el registro sanitario y vigilancia de los alimentos que se comercializan en El Salvador, cuenta con métodos convencionales y métodos rápidos para el análisis microbiológico de alimentos. Los métodos rápidos, como nuevas herramientas de respuesta en tiempos cortos, frente a la detección de patógenos de interés, utilizan la ciencia y tecnología para dar resultados oportunos. Estos métodos, además, se enfocan en identificar metabolitos, genes, reacciones específicas, entre otros, del microorganismo en estudio, por lo que los tiempos de espera se reducen en comparación con el método de cultivo convencional, cuyos orígenes se basan en el desarrollo de células viables que son evidenciadas por medio del crecimiento y reacciones bioquímicas

específicas en sustratos específicos o medios de cultivo. Esto implica tiempos de espera más prolongados, pero con resultados indudablemente confiables⁴.

Uno de los parámetros microbiológicos de importancia para salud pública es la determinación de *Salmonella* spp. en alimentos, microorganismo causante de la salmonelosis, enfermedad que afecta anualmente a millones de personas de todo el mundo y provoca más de cien mil defunciones anuales⁵. Por tanto, la detección oportuna de *Salmonella* spp. en alimentos permite tomar medidas para proteger la salud de la población⁶. Para su identificación, el Laboratorio Nacional de Referencia utiliza tres métodos de análisis: el *Assurance GDS Salmonella* (AOAC 2009.03), el inmunoensayo VIA TECRA *Salmonella* (AOAC 998.09) y el método convencional ISO 6579:2002 IDT. Los primeros dos son métodos rápidos y proporcionan los resultados en menor tiempo que el método convencional, el cual puede tardar entre 4 a 6 días para la detección. Un resultado rápido y oportuno puede evitar que personas enfermen por ingerir alimentos contaminados con este microorganismo patógeno involucrado en enfermedades transmitidas por alimentos⁷. A pesar de las múltiples ventajas de los métodos automatizados, es importante garantizar que estos sean efectivos y que cumplan todos los parámetros de calidad. Demostrar que los métodos rápidos son comparables a los métodos tradicionales y que cumplen con el fin previsto de análisis es una de las grandes oportunidades en la vigilancia sanitaria. El objetivo del presente estudio fue comparar dos métodos rápidos con el método convencional ISO 6579:2002 para la determinación de *Salmonella* spp. en carne de pollo.

METODOLOGÍA

Se realizó un estudio descriptivo de corte transversal donde se compararon dos métodos rápidos para la determinación de *Salmonella* spp. en carne de pollo: el método molecular (*Assurance GDS Salmonella*) (AOAC 2009.03) y el inmunoensayo visual (VIA TECRA *Salmonella*) (AOAC 998.09). Estos se compararon con el método convencional para la detección de *Salmonella* spp. ISO 6579:2002 IDT. Se calculó la sensibilidad, la especificidad, la tasa de falsos positivos, la tasa de falsos negativos de cada uno, utilizando como referencia los parámetros establecidos en la ISO 16140:2003⁸.

Se buscaron diferencias significativas entre los métodos rápidos y el método convencional, realizando la prueba estadística de McNemar (una prueba de Chi cuadrado X^2), utilizando Microsoft Excel 2010. La prueba establece que la proporción de positivos confirmados por el método alternativo no debe ser estadísticamente diferente de la proporción de positivos confirmados por el método de referencia (convencional)⁹.

El universo estuvo compuesto por 302 muestras de carne de pollo que se colectaron en un estudio sobre la contaminación microbiológica de la carne de pollo en supermercados, realizado por el Instituto Nacional de Salud (INS) en el año 2015¹⁰. Se calculó una población muestral de 72 con un nivel de confianza del 95 % y un margen de error del 10 %. Se tuvo la disponibilidad de analizar 24 muestras extras, por lo que los resultados también se agregaron a la población muestral de 72. Se obtuvieron un total de 96 muestras de forma aleatoria, las cuales fueron analizadas y con las que se realizó la comparación de métodos en el presente estudio. Este se realizó en el periodo de mayo a noviembre de 2015.

Preparación de la muestra

A partir de cada una de las muestras se pesaron asépticamente 25 g de carne de pollo y se mezclaron con 225 mL de agua peptonada 1 % (AP 1 %), se homogenizaron en *Stomacher* y se incubaron a 35°C \pm 2°C de 18-24 horas. Este procedimiento de preparación es el mismo para todos los métodos correspondientes a este

estudio. De esta etapa en adelante se trabajó en simultáneo cada muestra para el método convencional, el *Assurance GDS* y el inmunoensayo TECRA.

Método convencional, según ISO 6579:2002

En este método, el preenriquecimiento de la muestra en AP 1 % va seguido de un enriquecimiento selectivo en *Caldo Rappaport* ($41,5^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}/24 \text{ h} \pm 3 \text{ h}$) y caldo Tetrionato con novobiocina ($37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}/24 \text{ h} \pm 3 \text{ h}$). Pasado el período de incubación se realiza el aislamiento en medio selectivo y diferencial, estriando un inóculo tomado a partir de los caldos selectivos, en Agar XLD, HE y BS, los cuales se incubaron durante (24 ± 2) h a (35 ± 2) °C. Se aislaron colonias con aspecto típico de *Salmonella* de cada uno de los medios selectivos utilizados y se inocularon cada colonia en Agar TSI, LIA y caldo urea, incubados por (24 ± 2) h a (35 ± 2) °C. Los resultados positivos a la prueba de TSI, LIA y urea se complementaron por medio de la realización de pruebas de identificación bioquímica comerciales siguiendo las instrucciones del fabricante (API 20E)¹¹.

Método Screening Assurance GDS System

Una vez culminada la incubación de la etapa de preenriquecimiento, se tomó 1 mL de la muestra en AP 1 % y se colocó en los pocillos que contenían el reactivo de concentración, utilizando una pipeta multicanal (Pickpen). Se transfirió la muestra a través de la solución de lavado a los pocillos con BHI, se incubaron los pocillos por dos horas entre (35 y 37) °C. Pasado el lapso de incubación, con la pipeta multicanal se transfirieron las partículas contenidas en BHI a las placas con buffer de resuspensión. Luego se procedió a la amplificación y detección del microorganismo en estudio en el equipo automatizado *Rotor Gene GDS*. Si el resultado obtenido era negativo, el análisis finalizaba en esta etapa. Para las muestras positivas presuntivas, se continuaba el procedimiento a partir de la muestra en AP1 % como lo indica el método convencional, para las fases de enriquecimiento en caldo, aislamiento e identificación, confirmación bioquímica¹².

Método screening Inmunoensayo visual VIA TECRA Salmonella

La muestra preenriquecida se transfirió a los caldos selectivos *Rappaport* ($42^{\circ}\text{C} \pm 0,2^{\circ}\text{C}/24 \text{ h} \pm 2 \text{ h}$) y Tetrionato ($43^{\circ}\text{C} \pm 0,2^{\circ}\text{C}/24 \text{ h} \pm 2 \text{ h}$). Se tomó 1 mL de cada cultivo y se transfirieron a dos tubos con caldo M, respectivamente. Se transfirieron 0,5 mL de cada uno de los enriquecimientos en caldo M (para un volumen de 1 mL en total) a un tubo con tapón de rosca para su calentamiento en agua hirviendo por (10-15) min. Se dejó enfriar a temperatura ambiente y se procedió a transferir 0.2 mL de cada una de las muestras hervidas previamente a los respectivos pocillos para posterior realización del inmunoensayo. Esto requirió de un primer lavado, adición del conjugado, segundo lavado, adición del sustrato y, finalmente, se comprobó el color de los pocillos contra la carta del color propia del kit utilizado¹³.

Las muestras presuntivas positivas se confirmaron por estriado del cultivo proveniente de los caldos *Rappaport*, caldo tetrionato y caldo M, en agar HE, XLD y BS. Las colonias típicas o sospechosas obtenidas fueron confirmadas según el método convencional.

RESULTADOS

El método convencional ISO 6579:2002 fue capaz de detectar al patógeno en estudio en 59 de las 96 muestras analizadas, lo que equivale a un 61 % de positividad. Respecto al método molecular, de las 96 muestras procesadas se obtuvo un porcentaje de positividad del 59 %. Es decir, 57 de 96 muestras proporcionaron un

resultado positivo al patógeno en estudio; mientras que el 41 % restante, equivalente a 39 muestras, resultaron ser negativas a *Salmonella* spp. El inmunoensayo visual mostró un porcentaje de positividad del 59 %. Es decir, 57 de 96 muestras dieron resultado positivo al patógeno en estudio; mientras que el 41 % restante, equivalente a 39 muestras, resultaron ser negativas a *Salmonella* spp.

Comparación de los métodos en estudio

En la Tabla 1 se muestra el recuento general de cada uno de los elementos que permiten evaluar los métodos molecular e inmunoensayo visual, contra el método de cultivo convencional. Se observa que el método de inmunoensayo visual posee mayor cantidad de verdaderos positivos (52) y verdaderos negativos (32), y una menor cantidad de falsos negativos (7) y falsos positivos (5), contra lo correspondiente al *Assurance GDS System*. Respecto al método alternativo 1, método molecular, obtuvo un 85 % de sensibilidad. El inmunoensayo visual mostró una exactitud relativa del 88 % (un 5 % mayor que lo reportado por método molecular) y sensibilidad del 88 % (un 3 % más alta comparado con el molecular).

Los resultados referidos a la especificidad nos muestran al inmunoensayo visual con un 86 %, mientras que el molecular con un 81 %, teniendo, por tanto, un mejor desempeño el inmunoensayo. Se atribuye el 100 % al método convencional, siendo este la referencia. El método molecular posee una tasa de falsos positivos del 19 %, que supera al 14 % calculado para el inmunoensayo visual.

El test de significancia aplicando Chi cuadrado, descrito por McNemar, es una prueba que establece que la proporción de presuntivos confirmados por el método alternativo no es estadísticamente diferente a la proporción de positivos confirmados por el método de referencia para cada tipo de alimento. Por lo que los resultados planteados solo corresponden a carne fresca de pollo.

El resultado obtenido a través de este estudio aporta un valor de 0,0625, el cual es menor a 3,84, cumpliendo así con el parámetro planteado por McNemar. De esta manera se puede considerar que no existen diferencias significativas entre los métodos *Assurance GDS System* y el cultivo convencional, con un nivel de significancia del 5 %. El valor de Chi cuadrado descrito por McNemar para el inmunoensayo VIA TECRA fue de 0,083. Lo que implica que no existen diferencias significativas entre VIA TECRA *Salmonella* y el cultivo convencional, con un nivel de significancia del 5 %.

Comparación de los métodos en estudio

En la Tabla 1 se muestra el recuento general de cada uno de los elementos que permiten evaluar los métodos molecular e inmunoensayo visual, contra el método de cultivo convencional. Se observa que el método de inmunoensayo visual posee mayor cantidad de verdaderos positivos (52) y verdaderos negativos (32), y una menor cantidad de falsos negativos (7) y falsos positivos (5), contra lo correspondiente al *Assurance GDS System*. Respecto al método alternativo uno, método molecular, obtuvo un 85 % de sensibilidad. El inmunoensayo visual mostró una exactitud relativa del 88 % (un 5 % mayor que lo reportado por método molecular) y sensibilidad del 88 % (un 3 % más alta comparado con el molecular).

Los resultados referidos a la especificidad nos muestran al inmunoensayo visual con un 86 %, mientras que el molecular con un 81 %, teniendo, por tanto, un mejor desempeño el inmunoensayo. Se atribuye el 100 % al método convencional, siendo este la referencia. El método molecular posee una tasa de falsos positivos del 19 %, que supera al 14 % calculado para el inmunoensayo visual.

El test de significancia aplicando Chi cuadrado, descrito por McNemar, es una prueba que establece que la proporción de presuntivos confirmados por el método alternativo no es estadísticamente diferente a la proporción de positivos confirmados por el método de referencia para cada tipo de alimento. Por lo que los resultados planteados solo corresponden a carne fresca de pollo.

El resultado obtenido a través de este estudio aporta un valor de 0,0625, el cual es menor a 3,84, cumpliendo así con el parámetro planteado por McNemar. De esta manera se puede considerar que no existen diferencias significativas entre los métodos *Assurance GDS System* y el cultivo convencional, con un nivel de significancia del 5 %. El valor de Chi cuadrado descrito por McNemar para el inmunoensayo VIA TECRA fue de 0,083. Lo que implica que no existen diferencias significativas entre VIA TECRA *Salmonella* y el cultivo convencional, con un nivel de significancia del 5 %.

DISCUSIÓN

La carne fresca de pollo es un reservorio comprobado del agente *Salmonella* spp., ya que fue posible su detección mediante los tres métodos: convencional, método molecular e inmunoensayo visual, en un 59 % de las muestras y en el cultivo convencional en un 61 %. Asimismo, se evidencia que la carne fresca de pollo constituye una matriz de alta complejidad, ya que posee una gran cantidad de flora acompañante e interferente para su aislamiento.

Como se planteó en los análisis de resultados, al evaluar la cantidad de muestras correctamente asignadas como positivas al patógeno en estudio, en el análisis presuntivo emitido por los métodos alternativos molecular e inmunoensayo, es este último el que resultó con un porcentaje mayor en la detección de *Salmonella* spp. en carne fresca de pollo. El método inmunoensayo visual obtuvo un 88 % de sensibilidad ante el microorganismo diana; mientras que el método molecular fue sensible en un 85 % de las muestras que mediante el método convencional confirmaron ser positivas para *Salmonella* spp.

Los resultados obtenidos según los parámetros evaluados muestran que la metodología molecular y el inmunoensayo visual ofrecen una alta sensibilidad y especificidad en la detección de *Salmonella* spp. en la matriz evaluada. El inmunoensayo visual contra el método molecular tiene de un 3 % más capacidad de detectar a *Salmonella* spp. en la carne fresca de pollo.

En el método molecular la tasa de falsos positivos nos permite estimar en qué medida el método nos provee una respuesta positiva en la etapa presuntiva, que resulta ser negativa al confirmar por métodos convencionales de cultivo. Hecho que afecta en razón de costos, ya que estos se ven aumentados al sugerir muestras con resultados presuntivos positivos que deben pasar a la etapa confirmativa. El porcentaje relativamente alto de falsos positivos también puede deberse a la elevada carga de la flora acompañante en las muestras.

La tasa de falsos negativos para el método molecular posee el valor más alto, correspondiente a este parámetro, obteniendo un 15 % de falsos negativos, contra un 12 % del inmunoensayo visual. Estos resultados activan una alerta debido a que existe una posibilidad de liberar muestras de alimentos (12 %-15 %) “presuntivamente negativas”, que al seguir el método convencional son “confirmadas positivas”. Esto genera que una proporción de las muestras que poseen al patógeno no sean detectadas mediante los métodos alternativos evaluados.

El método molecular muestra que los resultados obtenidos se encuentran muy cercanos a los determinados por el método convencional, tomado como de referencia. La capacidad que posee este método asignando correctamente una muestra positiva en el análisis presuntivo corresponde a un 85 %. Cabe destacar que los métodos de tipo molecular se ven afectados por diversas características propias de la matriz, como la presencia de inhibidores, grasa propia de la muestra, entre otros, lo que puede generar cierto nivel de interferencia al momento de realizar los análisis.

Respecto al test de significancia de McNemar, se demostró que no existe diferencia significativa entre los métodos *Assurance GDS System* y el inmunoensayo VIA TECRA contra el método horizontal para la detección de *Salmonella* spp. (ISO 6579:2002, IDT), evaluados con un nivel de significancia $P \leq 0.05$. Este criterio es aplicable específicamente para la matriz en estudio: carne fresca de pollo. Por lo que se determina que los métodos en estudio son comparables entre sí.

Romero *et al.*, en su estudio comparativo, concluye que la técnica de PCR tiempo real (TR) obtuvo los mismos valores de sensibilidad y valor predictivo positivo que el método convencional ISO 6579. Lo que demuestra que la PCR-TR es una valiosa prueba alternativa en el tamizaje para la detección de *Salmonella* spp. en cárnicos, además de disminuir el tiempos de diagnóstico¹⁴.

Es importante enfatizar que la PCR, así como el inmunoensayo visual, complementa pero no reemplaza las técnicas microbiológicas tradicionales, debido a que los resultados positivos presuntivos deben confirmarse por el método convencional¹⁵.

Los métodos de cultivo mejorados que contiene sustratos específicos, así como los basados en ácidos nucleicos e inmunoensayos, dominan el mercado de los métodos alternativos. Sin embargo, la validación por instituciones independientes, por ejemplo AOAC, AFNOR, MicroVal y NordVal, es un elemento clave para demostrar la aplicabilidad de un nuevo método y su equivalencia con los procedimientos estándar o convencionales¹⁶.

CONCLUSIONES

La microflora presente en la carne fresca de pollo presenta un reto ante los métodos diagnósticos molecular e inmunoensayo visual por los falsos negativos. La capacidad de detección de *Salmonella* spp. con los métodos molecular e inmunoensayo visual es superior al 85 % de especificidad, clasificado dentro de un rango aceptable. Esto permite que dichos métodos se puedan usar como tamizaje y ser más costo-efectivos al disminuir el tiempo en la obtención de resultados y el consumo de reactivos. Dejando únicamente para el método convencional las muestras presuntivas positivas, es decir, sólo las confirmatorias.

El inmunoensayo visual contra el método molecular tiene una mayor capacidad para detectar a *Salmonella* spp. en la carne fresca de pollo. Los métodos evaluados inmunoensayo y método molecular no presentan diferencias significativas entre sí; sin embargo, no reemplazan los métodos convencionales.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Instituto Nacional de Salud y al Laboratorio Nacional de Referencia del Ministerio de Salud por su apreciable apoyo para la realización de los análisis microbiológicos respectivos.

CONFLICTO DE INTERÉS

El equipo responsable del artículo expresa no tener ningún tipo de conflicto de intereses ni relación económica, personal, política, interés financiero ni académico que pueda influir en el juicio e interpretación del estudio. La fuente de financiamiento del estudio fueron fondos institucionales del Ministerio de Salud de El Salvador y fondos de la Agencia Española de Cooperación Internacional para el Desarrollo (Aecid) en el marco del proyecto “Desarrollo y fortalecimiento institucional del Instituto Nacional de Salud de El Salvador”.

TABLA 1
Evaluación de métodos molecular e inmuno ensayo visual

PARÁMETROS	MÉTODOS EVALUADOS	
	Molecular	Inmunoensayo visual
Verdaderos Positivos (VP)	50	52
Verdaderos Negativos (VN)	30	32
Falsos Negativos (FN)	9	7
Falsos Positivos (FP)	7	5
Tasa de falsos positivos (%)	19	14
Tasa de falsos negativos (%)	15	12
Exactitud Relativa (%)	83	88
Sensibilidad (%)	85	88
Especificidad (%)	81	86
Chi ² McNemar	0.0625	0.083

elaboración propia

REFERENCIAS

1. Organización Mundial de la Salud. Inocuidad de los alimentos, datos y cifras. [Internet]. 2017. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/food-safety>
2. Organización Mundial de Sanidad Animal O. Una sola salud. [Internet]. Disponible en: http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Media_Center/img/Infographies/A4-ES-WEB.pdf
3. Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica IN de A. Guía de interpretación de resultados microbiológicos en alimentos. [Internet]. Disponible en: http://www.anmat.gov.ar/alimentos/guia_de_interpretacion_resultados_microbiologicos.pdf
4. Woan-Fei Law J, Ab Mutalib N-S, Chan K-G. Rapid methods for the detection of foodborne bacterial pathogens: principles, applications, advantages and limitations. *Front Microbiol Food Microbiol*. 2015;5:770. DOI: 10.3389/fmicb.2014.00770
5. Organización Mundial de la Salud. *Salmonella* no tifoidea. [Internet]. 2018. Disponible en: [https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/Salmonella-\(non-typhoidal\)](https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/Salmonella-(non-typhoidal))
6. Lee K-M, Runyon M, Herrman T, Phillips R, Hsieh J. Review of *Salmonella* detection and identification methods: Aspects of rapid emergency response and food safety. *Food Control*. 47(2015):264-276. DOI: 10.1016/j.foodcont.2014.07.011
7. Yáñez E, Máttar S, Durango A. 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. *Asoc Colomb Infectol*. diciembre de 2008;12:4.
8. International Organization for Standardization. ISO 16140:2003 Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Protocol for the validation of alternative methods.
9. Feldsine P. AIMC. International Methods Committee guidelines for validation of qualitative and quantitative food microbiological official methods of analysis [Internet]. 2002. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12374420>

10. López A, Burgos T, Díaz M, Mejía R, Quinteros E. Contaminación microbiológica de la carne de pollo en 43 supermercados de El Salvador. Revista ALERTA [Internet]. 2018;1(2). Disponible en: <http://alerta.salud.gob.sv/?p=1958>
11. International Organization for Standardization. ISO 6579:2002 IDT. Microbiología de alimentos de consumo humano y animal —Método Horizontal para la Detección de *Salmonella* spp.
12. AOAC International. AOAC Official Method 2009.03, *Salmonella* in foods and environmental surface. Assurance GDS *Salmonella* method for foods. 2015.
13. AOAC International. AOAC Official Method 998.09. Colorimetric screening enzyme immunoassay screening method (TECRA *Salmonella* visual immunoassay) [Internet]. 2002. Disponible en: <http://www.smartjd.org/pdf/177/11285274.pdf>
14. Romero M, Sánchez E, Jessica L. Análisis de la comparación del método estándar ISO 6579-2002 con PCR Tiempo Real como prueba de Tamizaje para la detección de *Salmonella* spp en carne molida, CNDRMINSA, Noviembre Diciembre 2014. [Internet]. [Managua.]: Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua.; 2015. Disponible en: <http://repositorio.unan.edu.ni/id/eprint/1024>
15. Bindu Bavisetty SC, Kim Vu HT, Benjakul S. Rapid pathogen detection tools in seafood safety. Current Opinion in Food Science. 2018;20(2):92-99. DOI: 10.1016/j.cofs.2018.05.013
16. Rohde A, Hammerl JA, Boone I, Jansen W, Fohler S, Klein G, et al. Overview of validated alternative methods for the detection of foodborne bacterial pathogens. Trends Food Sci Technol. 2017;62:113–118. DOI: 10.1016/j.tifs.2017.02.006