Artículo original

Estrategia para la detección de *Salmonella* spp. en alimentos mediante reacción en cadena de la polimerasa

Strategy for Detecting *Salmonella spp*. in Food Using Polymerase Chain Reaction

Marianela Ramón Corría[1*] https://orcid.org/0000-0002-3846-3436

Yamila Puig Peña[1] https://orcid.org/0000-0003-2404-123X

Virginia Leyva Castillo[1] https://orcid.org/0000-0002-3332-6475

Elizabeth González Perdomo[1] https://orcid.org/0009-0002-6708-0087

Tamara K. Martino Zagovalov[1] https://orcid.org/0009-0000-2171-1942

Yaumara Ferrer Márquez[1] https://orcid.org/0000-0001-9197-7877

[1]Instituto Nacional de Higiene Epidemiología y Microbiología (INHEM), Sección de Microbiología Sanitaria. La Habana, Cuba.

[*]Autor para la correspondencia: marianelarc@infomed.sld.cu

RESUMEN

Introducción: *Salmonella* spp. constituye uno de los principales agentes causales de brotes de enfermedades transmitidas por los alimentos en Cuba. La detección por técnicas moleculares es más sensible y específica que la identificación fenotípica; sin embargo, se pueden observar resultados falsos si el sistema de control no está estandarizado.

Objetivo: Implementar una estrategia basada en un sistema de controles para la detección de *Salmonella* spp. en alimentos mediante la reacción en cadena de la polimerasa.

Esta obra está bajo una licencia: https://creativecomons.org/licenses/by-nc/4.0/deed.es_ES

Métodos: Se estableció el método de detección de *Salmonella* spp. por PCR descrito por *Malorny* y otros. Se determinó el nivel mínimo de detección, se incorporaron controles internos de amplificación, controles de calidad y de sensibilidad, y se implementó una estrategia para el análisis de los resultados. Se determinó la concordancia y otros parámetros estadísticos en relación con el método de referencia, mediante el análisis de muestras de carnes y productos cárnicos.

Resultados: El nivel mínimo de detección fue de 5 UFC de *Salmonella* spp., el control interno de amplificación a la concentración seleccionada se consideró adecuado en esta investigación, así como el empleo de un sistema de controles. El análisis estadístico reveló alta sensibilidad y exactitud en la aplicación de la PCR. La concordancia entre métodos fue aceptable, con una fortaleza de acuerdo fuerte.

Conclusiones: La estrategia resultó factible en la implementación e incrementó la confiabilidad de los resultados, lo que contribuye al control higiénico de los alimentos, disminuye el riesgo de afectación económica y la ocurrencia de eventos epidemiológicos.

Palabras clave: alimentos; reacción en cadena de la polimerasa; *Salmonella*.

ABSTRACT

Introduction: *Salmonella spp.* is one of the main causative agents of foodborne illness outbreaks in Cuba. Detection by molecular techniques is more sensitive and specific than phenotypic identification; however, false positives can occur if the control system is not standardized.

Objective: To implement a strategy based on a system of controls for detecting *Salmonella spp*. in food using polymerase chain reaction.

Methods: The PCR detection method for *Salmonella spp*. described by Malorny et al. was established. The minimum detection level was determined, internal amplification controls, quality and sensitivity controls were incorporated, and a strategy for analyzing the results was implemented. Agreement and other statistical parameters were determined in relation to the reference method through the analysis of meat and meat product samples.

Results: The minimum detection level was 5 CFU of *Salmonella* spp. The internal amplification control at the selected concentration was considered adequate in this investigation, as was the use of a control system. Statistical analysis revealed high sensitivity and accuracy in PCR application. The agreement between methods was acceptable, with strong agreement.

Esta obra está bajo una licencia: https://creativecomons.org/licenses/by-nc/4.0/deed.es_ES

Conclusions: The strategy proved feasible to implement and increased the reliability of the results, contributing to hygienic food control, reducing the risk of economic impact, and decreasing the occurrence of epidemiological events.

Keywords: food; polymerase chain reaction; *Salmonella*.

Recibido: 17/10/2025

Aceptado: 03/04/2026

Introducción

La salmonelosis es una de las infecciones intestinales más distribuidas a nivel global.[1] En Cuba, *Salmonella* spp. es uno de los principales agentes causales de brotes de enfermedades transmitidas por los alimentos, asociados principalmente al consumo de carne y productos cárnicos.[2]

La detección rápida y específica de *Salmonella* spp. es crucial para garantizar la inocuidad alimentaria. Los métodos microbiológicos tradicionales, basados en medios de cultivo selectivos, caracterización bioquímica y serológica, requieren entre cuatro a siete días para ofrecer resultados, lo cual representa una limitante significativa.[3]

En los últimos años, las técnicas moleculares han agilizado la detección de patógenos en alimentos, lo que ha hecho el proceso más rápido y eficiente.[4] Entre estas destaca la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés), ampliamente utilizada para detectar *Salmonella* spp. en alimentos.[3,5] La PCR permite obtener resultados en 24 y 48 horas, con alta especificidad, sensibilidad y capacidad para procesar grandes volúmenes de muestras.[6]

En el Instituto Nacional de Higiene, Epidemiología y Microbiología (INHEM) de Cuba se implementa el método de PCR, usando los cebadores descritos por *Rhan* y otros.[7] Sin embargo, la aplicación se ha visto limitada por la presencia de sustancias inhibidoras que afectan la extracción y amplificación de ácidos nucleicos.[8]

Esta obra está bajo una licencia: https://creativecomons.org/licenses/by-nc/4.0/deed.es_ES

Por ello, fue imprescindible optimizar un sistema de controles que garantizara la confiabilidad de los resultados. El presente trabajo tuvo como objetivo implementar una estrategia basada en un sistema de controles para la detección de *Salmonella* spp. en alimentos mediante la PCR, con el fin de disponer de un ensayo más fiable que contribuya al fortalecimiento de la vigilancia epidemiológica de este microorganismo en Cuba.

Métodos

Se realizó un estudio experimental para diseñar una estrategia de control de la PCR para la detección de *Salmonella* spp. en alimentos. En la metodología se incorporaron controles internos de amplificación, controles de calidad y de sensibilidad, y se implementó una estrategia para el análisis de los resultados. La investigación se efectuó en el Laboratorio de Microbiología Sanitaria del INHEM, durante el período comprendido entre agosto de 2023 y marzo de 2024.

Procedimiento general

Pre-enriquecimiento

Se utilizaron 25 g de alimento en 225 ml de agua peptonada buferada, incubados a 37 °C ± 1 °C durante 18 h ± 2 h.

Enriquecimiento Selectivo

Se tomó 0,1 ml de este cultivo para inocular diez ml de caldo Rappaport Vassiliadis con soya (CRVS). En paralelo, se incluyó un control positivo con la cepa de referencia *S. Typhimurium* ATCC 14028 y un tubo sin inocular como control negativo. La incubación fue a 41,5 °C durante 18-24 horas.

Extracción de ADN

Los caldos RVS se homogeneizaron y se transfirieron 1,5 ml a viales estériles. Se centrifugó a 12 000 x g, 4 °C. El sedimento se lavó con solución TE 1X (10 mM Tris, 2 mM EDTA) y se repitió la centrifugación.

Esta obra está bajo una licencia: https://creativecomons.org/licenses/by-nc/4.0/deed.es_ES

Se eliminó el sobrenadante y se resuspendió el sedimento en 100 µl de solución TE 1X con 1 % Tritón X-100. Tras homogeneizar, las muestras fueron sometidas a ebullición (100 °C, 15 min), se atemperaron y centrifugaron. Finalmente, se tomaron 50 µl del sobrenadante, utilizando 5 µl por reacción (volumen final 25 µl).

Detección de *Salmonella* spp.

Se amplificó un fragmento de 284 pares de bases (pb) del gen *invA* usando los cebadores:

- P139: GTGAAATTATCGCCACGTTCGGGCAA
- P141: TCATCGCACCGTCAAAGGAACC

El procedimiento para la reacción y amplificación se realizó según *Malorny* y otros.[9] Los productos se analizaron en gel de agarosa al 2 % con bromuro de etidio (0,5 µg/ml), mezclados con 5 µl del tampón de carga BFA 6X (0,25 % bromofenol azul, 30 % glicerol en agua). La electroforesis se ejecutó a 200 V durante 30 minutos en tampón TBE 0,5X (0,045 M Tris, 0,045 M ácido bórico, 1,25 mM EDTA, 2Na, pH 8,2).

Se cargaron 12 µl de muestras junto con un marcador de 50 pb. Los fragmentos se visualizaron con luz ultravioleta a 310 nm y se documentaron con el sistema DigiDoc-It 7.0.

Determinación del Límite de Detección de *Salmonella* spp. mediante PCR

Se prepararon diluciones seriadas (hasta 10^{-6}) en caldo Luria-Bertani (LB) de un cultivo de 24 horas de *S. Typhimurium ATCC* 14028 y se sembraron 100 µl en agar xilosa lisina desoxicolato (XLD). Tras incubar a 37 °C, durante 24 horas, se contaron las colonias y se seleccionaron las placas con conteos de 20-300 colonias para calcular varianza y dispersión según ISO 13843: 2017.[10]

A partir de la dilución con menor variación, se prepararon diluciones hasta aproximadamente 1 UFC/ml. Se extrajo ADN y se realizó la PCR para la detección del gen *invA* según el protocolo descrito anteriormente. El experimento se repitió cinco veces para evaluar la reproducibilidad.

Esta obra está bajo una licencia: https://creativecomons.org/licenses/by-nc/4.0/deed.es_ES

Se prepararon alícuotas de la dilución con el mínimo nivel de detección en un volumen final de 5 µl, las cuales fueron conservadas a -20 °C, para control de sensibilidad (CS).

Control Interno de Amplificación

Se utilizó el producto amplificado del Control Interno de Amplificación (IAC, por sus siglas en inglés, *Internal Amplification Control*) donado por el Instituto Malbrán de Argentina, ADN recombinante que presenta las secuencias extremas complementarias a los cebadores utilizados para la amplificación del fragmento *invA*. La amplificación genera un fragmento de 157 pb.

Se utilizó 1 µl del producto y se realizaron diluciones en el rango 10^{-8} a 10^{-11} para la amplificación de cada una mediante las condiciones de reacción y el programa de la PCR descritos anteriormente.

Tras determinar la dilución mínima detectable, se llevó a cabo una coamplificación empleando el nivel más bajo de detección de *Salmonella* spp., con la finalidad de descartar efectos de inhibición competitiva. Confirmada la factibilidad, se prepararon alícuotas de la dilución seleccionada, conservadas a -20 °C.

Controles de Calidad

Se realizaron los siguientes controles de calidad:

- Control de extracción (CE): *Salmonella Typhimurium ATCC* 14028 procesada junto con cada lote de muestras.
- Control blanco (CB): caldo *CRVS* sin inocular en cada lote de extracción.
- Control de reacción (CR): mezcla de reacción sin muestra, reemplazada por agua ultrapura.

Estrategia basada en sistema de controles

Se implementaron las medidas de control siguientes:

Esta obra está bajo una licencia: https://creativecomons.org/licenses/by-nc/4.0/deed.es_ES

- Cada lote de muestras incluyó CE y CB, procesados simultáneamente en la extracción y detección.
- Cada lote de amplificación incluyó control de CS y CR, procesados independientemente.
- El IAC se incorporó sistemáticamente en todas las reacciones de amplificación a la concentración definida.

Estrategia para el análisis de resultados

Se establecieron los criterios siguientes para la interpretación de los resultados:

- Positivo: presencia del gen *invA*, independientemente de que esté presente o no el IAC. Se realiza la detección de *Salmonella* spp. mediante el método microbiológico tradicional para verificar la viabilidad.
- No concluyente: Ausencia del gen *invA* y del fragmento IAC, lo que invalida el resultado particular. En este caso se realiza la detección de *Salmonella* spp. mediante el método microbiológico tradicional a partir del cultivo en el caldo RVS.
- Negativo: no se detecta el gen *invA* y está presente el IAC. La muestra se informa como no detección de *Salmonella* spp.

Criterios de evaluación por controles de calidad

Se tuvieron en cuenta los siguientes criterios para la evaluación de los controles de calidad:

- CE negativo: ausencia del gen *invA* en el control de extracción (CE), invalida los resultados de todas las muestras del lote que resulten negativas, por lo que deben ser sometidas nuevamente al proceso de extracción a partir del cultivo líquido.
- CB positivo: presencia del fragmento *invA* en el control blanco (CB) invalida los resultados de todas las muestras del lote que resulten positivas, por lo que deben ser sometidas nuevamente al proceso de extracción a partir del cultivo líquido.

(cc) BY-NC Esta obra está bajo una licencia: https://creativecomons.org/licenses/by-nc/4.0/deed.es_ES

- CR positivo: presencia del fragmento *invA* en el control de reacción (CR), invalida todas las muestras positivas. Verificar medidas para evitar la contaminación con producto amplificado, antes de repetir el estudio de estas muestras.

Criterios para el reporte final

Toda muestra en la que no esté presente el fragmento *invA* será reportada como no detectada *Salmonella* spp., en cantidades iguales o superiores al límite de detección determinado, siempre y cuando el control de sensibilidad haya resultado positivo para el fragmento *invA*.

Evaluación de la PCR respecto al método de referencia

Se comparó la detección de *Salmonella* spp. por PCR con el método de referencia ISO 6579-1:2017[11] utilizando paralelamente CRVS. Se analizaron 76 muestras de carne y productos cárnicos.

Procesamiento de los datos y análisis estadístico

Los resultados de los ensayos se analizaron mediante el Programa de habilidades de evaluación crítica de eficiencia, por sus siglas en inglés, CASP (*Critical Appraisal Skills Programme*).[12] Se estimaron la sensibilidad, especificidad y exactitud con un nivel de confianza del 95 %. La concordancia entre los dos métodos de análisis se estimó con el coeficiente κ (kappa). El valor $\kappa \geq 0{,}6$ se consideró como concordancia "aceptable". La fortaleza de la concordancia fue calificada de la manera siguiente: Ausente, $\kappa < 0{,}1$; Débil, $0{,}10 \leq \kappa \leq 0{,}40$; Justa: $0{,}40 < \kappa \leq 0{,}60$; Fuerte: $0{,}60 < \kappa \leq 0{,}80$; y casi completo: $0{,}80 < \kappa \leq 1{,}00$, respectivamente.

Resultados

El análisis del límite de detección se muestra en la figura 1. Se obtuvo amplificación del gen *invA* en todas las concentraciones evaluadas, lo que demostró que el método puede detectar hasta 5 UFC.

Esta obra está bajo una licencia: https://creativecomons.org/licenses/by-nc/4.0/deed.es_ES

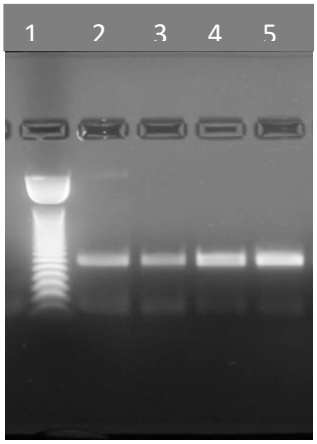


Fig. 1 - Electroforesis de amplicones de diferentes concentraciones (UFC) de *Salmonella Typhimurium*. (1): *ladder* 50 pb; (2): 5 UFC; (3):10 UFC; (4): 15 UFC; (5): 20 UFC.

La figura 2 muestra los resultados de la evaluación de eficiencia de amplificación de las distintas diluciones del IAC. Se detectó el producto amplificado en todas las diluciones estudiadas.

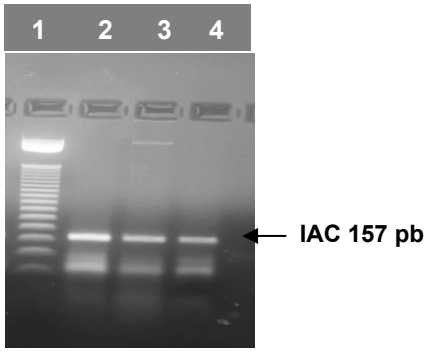


Fig. 2 - Electroforesis de amplicones correspondientes a diferentes diluciones del IAC. (1): *ladder* 50 pb; (2): dilución 10^{-9}; (3): dilución 10^{-10}; (4): dilución 10^{-11}.

Los resultados de la coamplificación de 5 *ufc de Salmonella* spp., con la dilución seleccionada de IAC, se presentan en la figura 3.

Esta obra está bajo una licencia: https://creativecomons.org/licenses/by-nc/4.0/deed.es_ES

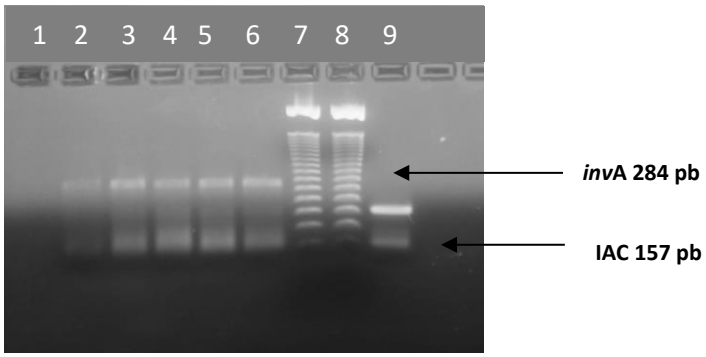


Fig. 3 - Coamplificación de 5 *UFC* de *S. Typhimurium* e IAC (dilución10^{-11}). (2-6): réplicas; (7-8): *ladder* 50 pb; (9): Control de reacción (CR).

El gen *invA* se amplificó en todas las reacciones. El IAC mostró amplificación leve en carrileras 2-6 y nítida en el control sin ADN (carrilera 9).

En la figura 4 se presenta un ejemplo de los posibles resultados del análisis de un lote de muestras mediante la estrategia propuesta.

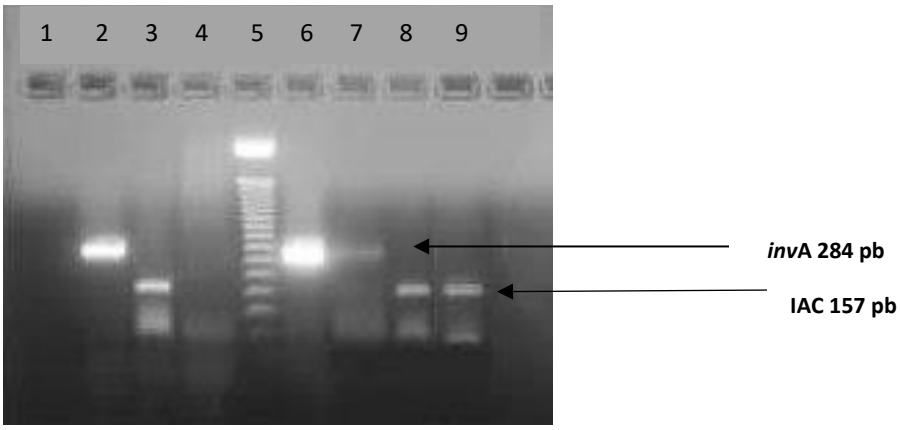


Fig. 4 - Electroforesis que muestra los diferentes resultados en el análisis de alimentos y el funcionamiento de los controles establecidos. (2): muestra positiva; (3): muestra negativa; (4): muestra no concluyente; (5): *ladder* 50 pb; (6): control de extracción (CE); (7): control de sensibilidad (CS); (8): control de reacción (CR), (9): control blanco (CB).

La muestra en el carril dos resultó positiva, se detectó el fragmento de 284 pb correspondiente al gen i*nvA*; la del carril tres fue negativa, no se detectó la presencia del gen *invA*, solamente amplificó el fragmento de 157 pb correspondiente al IAC;

Esta obra está bajo una licencia: https://creativecomons.org/licenses/by-nc/4.0/deed.es_ES

en el carril cuatro se obtuvo un resultado no concluyente: ausencia tanto del gen *invA* como del IAC; en los carriles seis y siete se detectó el fragmento *invA* correspondiente al control de extracción y de sensibilidad respectivamente; en los carriles ocho y nueve se obtuvo amplificación del IAC correspondientes a los controles de reacción y blanco.

La aplicación de esta estrategia permitió detectar satisfactoriamente *Salmonella* spp. en diferentes tipos de alimentos.

Determinación de la sensibilidad y concordancia del método

En el análisis comparativo de los resultados en 76 muestras cárnicas analizadas mediante PCR, la detección de *Salmonella* spp. fue en 78,7 % de los productos y por cultivo en 30,3 % (tabla 1).

Tabla 1 - Resultados de la comparación del método de PCR con el método de referencia. INHEM, 2024

Alimentos	N.º Muestras	Muestras positivas		Positivo Verdadero	Negativo Verdadero	Falso Negativo	Falso Positivo
		PCR	Cultivo				
Carne de ave	25	24	20	20	5	0	4
Carne de res	4	1	0	0	4	0	1
Carne de cerdo	10	2	2	2	8	0	0
Carne de carnero	2	0	0	0	2	0	0
Jamón	10	5	0	0	10	0	5
Jamonada	2	0	0	0	2	0	0
Mortadela	3	0	0	0	3	0	0
Chorizo	6	2	0	0	6	0	2
Perro caliente	2	0	0	0	2	0	0
Hamburguesa	4	1	1	1	3	0	0

Esta obra está bajo una licencia: https://creativecomons.org/licenses/by-nc/4.0/deed.es_ES

Croqueta	3	1	0	0	3	0	1
Picadillo	5	1	0	0	5	0	1
Total (%)	76 (100)	37 (78,7)	23 (30,3)	23 (30,3)	53 (69,7)	0 (0,0)	14 (18,4)

El análisis estadístico reveló alta sensibilidad y exactitud, con un valor predictivo negativo del 100 %. La concordancia entre métodos fue aceptable, con una fortaleza de acuerdo fuerte (tabla 2).

Tabla 2 - Resultados del análisis estadístico

Parámetro estadístico	Valor	**IC**	**95 %**
Sensibilidad	100,0 %	85,7 %	a 100,0 %
Especificidad	79,1 %	67,9 %	a 87,1 %
Valor predictivo positivo	62,2 %	46,1 %	a 75,9 %
Valor predictivo negativo	100,0 %	93,2 %	a 100,0 %
Proporción de falsos positivos	20,9 %	12,9 %	a 32,1 %
Proporción de falsos negativos	0,0 %	0,0 %	a 14,3 %
Exactitud	84,4 %	75,6 %	a 90,5 %
Índice *Kappa*	0,66	0,50	a 0,82

Discusión

Las técnicas moleculares como la PCR son herramientas poderosas para la detección rápida y sensible de patógenos,[13] pero enfrentan desafíos en matrices alimentarias complejas que pueden generar resultados no concluyentes.[14]

La presencia de inhibidores en alimentos como la lactoferrina, los polisacáridos, las grasas, las proteínas y los iones metálicos[15] afecta la eficiencia de la reacción, con posibles implicaciones en la seguridad alimentaria. Un resultado falso negativo

Esta obra está bajo una licencia: https://creativecomons.org/licenses/by-nc/4.0/deed.es_ES

conlleva a permitir la cadena de transmisión de *Salmonella* spp., con riesgos para la salud.[16]

Una posible causa de resultados falsos negativos es la no detección del microorganismo de interés, por estar presente en niveles inferiores a la sensibilidad del método. En este estudio se demostró un límite de detección de 5 UFC, resultados similares a otros estudios que reportaron límites de detección de *Salmonella* spp. de 2 UFC/ml[17] y de 12 UFC/ml.[18]

En el proceso empleado, la ocurrencia de falsos negativos pudo controlarse mediante la inclusión de un control interno, el cual permitió detectar la presencia de inhibidores sin comprometer la sensibilidad del ensayo, coincidiendo con resultados previos descritos en otros estudios.[19,20]

Respecto al IAC, cabe señalar que comparte los mismos cebadores que la secuencia diana (*invA)*, lo que puede generar competencia por los reactivos y disminuir la eficiencia de la amplificación. Por ello se recomienda utilizar la mínima concentración de IAC que pueda detectarse en ausencia del microorganismo diana.[21] La dilución seleccionada de IAC (10^{-11}) en esta investigación, no afectó la amplificación del gen *invA* en el control de sensibilidad, lo cual garantizó que, su inclusión no comprometiera la aplicación del método en el nivel establecido. Por otra parte, el control de sensibilidad permitió detectar el nivel de negatividad del método.

Otras causas de resultados falsos negativos se describen en la literatura revisada, como los inhibidores de la ADN polimerasa, que pueden persistir tras la extracción de ADN e impedir la amplificación del producto esperado.[22] Esto puede estar dado por la extracción deficiente de ADN, uso de reactivos de baja calidad o mala manipulación, aspectos que motivaron el empleo del control de extracción para detectar estas deficiencias.

En cuanto a los falsos positivos en la PCR, relacionados con patógenos alimentarios, conllevan a perjuicios económicos injustificados y reducen la disponibilidad de alimentos.[14] La principal causa en el método estandarizado es la contaminación previa con producto amplificado (como *carry-over*),[23] que ocurre por incumplimiento de los protocolos. Cuando afecta un lote completo, indica contaminación de los reactivos utilizados para el cultivo, la extracción o la PCR. En tal caso, el control de reacción detecta contaminación en la etapa pre-PCR, mientras que el control blanco identifica problemas en la extracción por manipulación inadecuada o reactivos deficientes. En los procesos de la PCR, estos controles son

Esta obra está bajo una licencia: https://creativecomons.org/licenses/by-nc/4.0/deed.es_ES

considerados esenciales para evaluar el desempeño técnico y la calidad analítica.[24]

Cabe destacar que, en el análisis estadístico de los resultados de la PCR con relación al método de referencia, se encontró un alto nivel de concordancia y el valor predictivo negativo fue del 100 %, lo que es de gran importancia en cuanto a la garantía de inocuidad de los alimentos.

La frecuencia de *Salmonella* spp. detectada fue baja respecto a los resultados reportados de otros estudios realizados en muestras de carne.[25,26,27] En esta investigación se tuvieron en cuenta las muestras positivas por la PCR que estuvieron respaldadas por aislamientos, destacando que la PCR amplifica el ADN proveniente de células viables y no viables; por tanto, es importante demostrar la viabilidad del microorganismo como riesgo para la salud.

En la actualidad se llevan a cabo estudios de viabilidad mediante la técnica de PCR en tiempo real, con la aplicación de colorantes fotorreactivos, que ofrecen selectividad entre células viables y no viables.[28] Esta metodología resulta de interés para implementarla en el futuro, lo cual ahorraría tiempo y recursos en la obtención del resultado final. Se concluye que la estrategia de detección de *Salmonella* spp. mediante PCR, basada en la detección del gen *invA* y respaldada por un sistema integral de controles, demostró ser confiable y eficaz. Su implementación permitió la detección específica del patógeno en alimentos, con un límite bajo de 5 UFC/ml. La inclusión sistemática de controles garantizó la validez de los resultados. Este enfoque constituye una herramienta para el monitoreo de *Salmonella* spp., ofreciendo una alternativa rápida y confiable al método microbiológico tradicional, lo que contribuye a la inocuidad de los alimentos que se comercializan en el país, disminuye el riesgo de afectación económica y la ocurrencia de eventos epidemiológicos.

Referencias bibliográficas

1. Galán-Relaño Á, Valero Díaz A, Huerta Lorenzo B, Gómez-Gascón L, Mena Rodríguez MÁ, Carrasco Jiménez E, *et al*. *Salmonella* and Salmonellosis: An Update on Public Health Implications and Control Strategies. Animals. Basel. 2023;13(23):3666. DOI: https://doi.org/10.3390/ani13233666

2. Rodríguez Julian AR, Marín Mendez M, Minier Pouyou, Rizo Arredondo I, Fuentes Gómez Y. Vigilancia epidemiológica de brotes de enfermedades trasmitidas por

Esta obra está bajo una licencia: https://creativecomons.org/licenses/by-nc/4.0/deed.es_ES

alimentos en la provincia de Santiago de Cuba. MEDISAN. 2022 [acceso 04/03/2026];26(1):47-59. Disponible en: https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=9852816

3. Huertas-Caro C, Urbano-Cáceres E, Torres-Caycedo M. Diagnóstico molecular: una alternativa para la detección de patógenos en alimentos. Rev haban cienc méd. 2019 [acceso 04/03/2026];18(3):513-28. Disponible en: https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7000351

4. Zhang M, Wu J, Shi Z, Cao A, Fang W, Yan D, *et al*. Molecular Methods for Identification and Quantification of Foodborne Pathogens. Molecules. 2022;27(23):8262. DOI: https://doi.org/10.3390/molecules27238262

5. Zahraei ST, Mahzounieh M, Saeedzadeh A. Detection of InvA Gene in Isolated Salmonella from Broilers by PCR Method. International Journal of Poultry Science. 2005;4(8):557-9. DOI: https://doi.org/10.3923/ijps.2005.557.559

6. Sánchez Álvarez ML, Roque de Escobar Martín HD, Delgado Cura N. Aproximación a la técnica de reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real. Medicentro Electrónica. 2020 [acceso 10/03/2026];24(4):715-20. Disponible en: https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=10078828

7. Rahn K, De Grandis SA, Clarke RC, McEwen SA, Galán JE, Ginocchio C, *et al.* Amplification of an invA gene sequence of Salmonella typhimurium by polymerase chain reaction as a specific method of detection of Salmonella. Mol Cell Probes. 1992;6(4):271-9. DOI: https://doi.org/10.1016/0890-8508(92)90002-f

8. Malorny B, Paccassoni E, Fach P, Bunge C, Martin A, Helmuth R. Diagnostic real-time PCR for detection of Salmonella in food. Appl Environ Microbiol. 2004;70(12):7046-52. DOI: https://doi.org/10.1128/AEM.70.12.7046-7052.2004

9. Malorny B, Hoorfar J, Hugas M, Heuvelink A, Fach P, Ellerbroek L, *et al.* Interlaboratory diagnostic accuracy of a *Salmonella-specific* PCR-based method. Int J Food Microbiol. 2003;89(2-3):241-9. DOI: https://doi.org/10.1016/s0168-1605(03)00154-5

10. International Standard Organization. Water quality-Requirements for establishing performance characteristics of quantitative microbiological methods. ISO 13843, 2017 [acceso 12/01/2025] Disponible en: https://www.iso.org/standard/62979.html

11. International Standard Organization. Microbiología de la cadena alimentaria. Método horizontal para la detección, enumeración y serotipado de Salmonella. Parte 1: Detección de Salmonella spp. ISO 6579-1:2017/A1:2021 [acceso 16/01/2025].

Esta obra está bajo una licencia: https://creativecomons.org/licenses/by-nc/4.0/deed.es_ES

Disponible en: https://www.une.org/encuentra-tu-norma/busca-tu-norma/norma?c=N0058760

12. Aladhadh M. A Review of Modern Methods for the Detection of Foodborne Pathogens. *Microorganisms*. 2023;11(5):1111. DOI: https://doi.org/10.3390/microorganisms11051111

13. Palomino-Camargo Carolina, González-Muñoz Yuniesky. Técnicas moleculares para la detección e identificación de patógenos en alimentos: ventajas y limitaciones. Rev. perú. med. exp. Salud pública. 2014 [acceso 11/06/2026];31(3):535-46. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342014000300020&lng=es

14. Sidstedt M, Rådström P, Hedman J. PCR inhibition in *qPCR, dPCR* and MPS—mechanisms and solutions. *Anal Bioanal Chem* 412, 2009-2023 (2020). DOI: https://doi.org/10.1007/s00216-020-02490-2

15. Law JW, Ab Mutalib NS, Chan KG, Lee LH. Rapid methods for the detection of foodborne bacterial pathogens: principles, applications, advantages, and limitations. Front Microbiol. 2014;5:770. DOI: https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00770

16. Villarreal Camacho J, Soto Varela Z, Pereira San Andrés N, Varela Prieto L, Jaramillo Lanchero R, Villanueva Torregroza D, *et al*. Reacción en cadena de la polimerasa para la detección de *Salmonella* spp. en leche en polvo: optimización del método en 12 horas. Salud Uninorte. 2008;24(2):216-25. [acceso 11/06/2026]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/288762433_Polimerase_chain_reaction_technique_for_detecting_salmonella_sp_in_powdered_milk_Optimization_of_the_method_in_12_hours

17. Jiali L, Ma B, Fang J, Zhi A, Chen E, Xu Y, *et al*. Recombinase Polymerase Amplification (RPA) Combined with Lateral Flow Immunoassay for Rapid Detection of Salmonella in Food. Foods 2020;9(1):27. DOI: https://doi.org/10.3390/foods9010027

18. Hoorfar J, Cook N, Malorny B, Wagner M, De Medici D, Abdulmawjood A, Fach P. Making internal amplification control mandatory for diagnostic PCR. J Clin Microbiol. 2003;41(12):5835. DOI: https://doi.org/10.1128/JCM.41.12.5835.2003

19. Tang YW, Ellis NM, Hopkins MK, Smith DH, Dodge DE, Persing DH. Comparison of phenotypic and genotypic techniques for identification of unusual aerobic pathogenic gram-negative bacilli. J Clin Microbiol. 1998;36(12):3674-9. DOI: https://doi.org/10.1128/JCM.36.12.3674-3679.1998

Esta obra está bajo una licencia: https://creativecomons.org/licenses/by-nc/4.0/deed.es_ES

20. Aslanzadeh J. Preventing PCR amplification carryover contamination in a clinical laboratory. Ann Clin Lab Sci. 2004 [acceso 11/05/2026];34(4):389-96 Disponible en: https://www.annclinlabsci.org/content/34/4/389.long
21. Bou G, Cantón R, Martínez-Martínez L, Navarro D, Vila J. Fundamentals and implementation of Microbiological Diagnostic Stewardship Programs. Enferm Infecc Microbiol Clin (Engl Ed). 2021;39(5):248-51. DOI: https://doi.org/10.1016/j.eimc.2020.02.019. Epub 2020 Mar 29.
22. Bayas-Morejón F, Salazar-Ramos S, Beltrán K, Verdezoto L. Aislamiento e identificación molecular de *Salmonella* spp. a partir de carne de res, cerdo y pollo recolectados en mercados en Guaranda. Cienc Tecn UTEQ. 2021;14(2):73-6. DOI: https://doi.org./10.18779/cyt.v14i2.505

23. Committee on PCR Standards for the BioWatch Program; Board on Life Sciences; Division on Earth and Life Studies; Board on Health Sciences Policy; Institute of Medicine; National Research Council. BioWatch PCR Assays: Building Confidence, Ensuring Reliability: Abbreviated Version. Washington (DC): National Academies Press (US). 2015. DOI: https://doi.org./10.17226/21658

24. Miao S, Liu LI, Fu Z. Prevalence of Salmonella in Chinese Food Commodities: A Meta-Analysis. J Food Prot. 2022;85(5):859-70. DOI: https://doi.org/10.4315/JFP-21-304
25. Thomas KM, de Glanville WA, Barker GC, Benschop J, Buza JJ, Cleaveland S, *et al*. Prevalence of Campylobacter and Salmonella in African food animals and meat: A systematic review and meta-analysis. Int J Food Microbiol. 2020;315:108382. DOI: https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2019.108382
26. Godínez-Oviedo A, Tamplin ML, Bowman JP, Hernández-Iturriaga M. Salmonella enterica in Mexico 2000-2017: Epidemiology, Antimicrobial Resistance, and Prevalence in Food. Foodborne Pathog Dis. 2020;17(2):98-118. DOI: https://doi.org/10.1089/fpd.2019.2627
27. Trinh KTL, Lee NY. Recent Methods for the Viability Assessment of Bacterial Pathogens: Advances, Challenges, and Future Perspectives. *Pathogens.* 2022;11(9):1057. DOI: https://doi.org/10.3390/pathogens11091057

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.

Esta obra está bajo una licencia: https://creativecomons.org/licenses/by-nc/4.0/deed.es_ES

Contribución de los autores

Conceptualización: Marianela Ramón Corría y Yamila Puig Peña.

Adquisición de fondos: Tamara K. Martino Zagovalov.

Investigación: Marianela Ramón Corría y Elizabeth González Perdomo.

Administración del proyecto: Yamila Puig Peña.

Supervisión: Virginia Leyva Castillo.

Recursos: Yaumara Ferrer Márquez.

Redacción-borrador original: Marianela Ramón Corría y Yamila Puig Peña.

Esta obra está bajo una licencia: https://creativecomons.org/licenses/by-nc/4.0/deed.es_ES