



UNIVERSIDAD PERUANA  
**CAYETANO HEREDIA**

FACULTAD DE CIENCIAS E INGENIERÍA

**IMPLEMENTACIÓN DEL MÉTODO DE DETECCIÓN PARA *SALMONELLA*  
*SPP* POR LA NORMA ISO 6579-1:2017 EN UN LABORATORIO DE ENSAYO  
PARA SU ACREDITACIÓN ANTE INACAL**

Trabajo de Suficiencia Profesional para optar el Título Profesional de Licenciado en  
Biología

**AUTOR:**

TANIA SADITH ARMAS HOYOS

**ASESOR:**

MG. RUTH LILIANA CRISTOBAL DELGADO

**LIMA – PERÚ**

**2025**

## **Revisores**

**Revisor 1:** Mg. Leon Faustino Villegas Vilchez

**Revisor 2:** Mg. Ana Cecilia Colarossi Salinas



## DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD

Los egresados:

N°	APELLIDOS Y NOMBRES
1.	ARMAS HOYOS TANIA SADITH

Pertencientes al programa de la **CARRERA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA**, autores del trabajo titulado: **IMPLEMENTACIÓN DEL MÉTODO DE DETECCIÓN PARA SALMONELLA SPP POR LA NORMA ISO 6579-1:2017 EN UN LABORATORIO DE ENSAYO PARA SU ACREDITACIÓN ANTE INACAL**, el cual ha sido elaborado, sustentado y aprobado, según corresponda, para optar por el **TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADO EN BIOLOGÍA** bajo la modalidad de **TRABAJO DE SUFICIENCIA PROFESIONAL**.

En calidad de docentes asesores de la Universidad Peruana Cayetano Heredia:

N°	APELLIDOS Y NOMBRES DEL DOCENTE	FACULTAD	NIVEL DE ASESORÍA
1.	CRISTOBAL DELGADO RUTH LILIANA	FACI	ASESOR

Declaramos que el contenido del presente documento es original y que las citas y referencias a otros autores cumplen con las normas académicas establecidas. En ese sentido, hacemos constar que:

- El documento presenta un porcentaje de similitud de **14%**, según el reporte emitido por el software **Turnitin®** (identificador de entrega: **3352454356**; fecha de entrega: **26/09/2025**).
- Tras una revisión detallada del reporte y del contenido del trabajo en cuestión, no se han identificado indicios de plagio.
- Se certifica que el documento respeta los principios de integridad académica y cumple con los requisitos institucionales de originalidad.

Lugar y fecha: **Lima, 26 de septiembre de 2025**

Firma del asesor

N° DNI: 10718027

ORCID: 0000-0001-8892-8927

## TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN.....	1
ABSTRACT .....	2
I. INTRODUCCIÓN .....	3
II. MARCO TEÓRICO .....	7
2.1. <i>Salmonella spp.</i> .....	7
2.2. Relevancia de la detección de <i>Salmonella spp.</i> en alimentos.....	12
2.3. Epidemiología de <i>Salmonella</i> .....	13
2.4. Métodos de detección de <i>Salmonella spp.</i> .....	14
2.5. Control de calidad microbiológico en la industria alimentaria .....	16
2.6. Norma ISO 6579-1:2017.....	17
2.7. Norma NTP-ISO/IEC 17025:2017 .....	17
2.8. Instituto Nacional de Calidad (INACAL) .....	18
2.9. Objetivo General.....	19
2.10. Objetivos Específicos .....	19
III. METODOLOGIA Y PROCEDIMIENTOS .....	20
3.1. Capacitación al personal del laboratorio en la Norma ISO 6579-1:2017 para detección de <i>Salmonella spp.</i> .....	20
3.2. Acondicionamiento del laboratorio de acuerdo con la Norma ISO 6579-1:2017 para detección de <i>Salmonella spp.</i> .....	23

3.3.	Materiales para el método de detección de <i>Salmonella spp.</i> .....	30
3.4.	Preparación de la muestra .....	31
3.5.	Detección de la presencia o ausencia de <i>Salmonella spp</i> en muestra de alimentos según la Norma ISO 6579-1:2017.....	33
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	38
4.1.	Resultados .....	38
4.2.	Discusión.....	45
V.	CONCLUSIONES .....	50
VI.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	51
	ANEXOS.....	51

## RESUMEN

La salmonelosis continúa siendo una de las principales enfermedades transmitidas por alimentos, representando un reto constante para la salud pública tanto en Perú como a nivel global. *Salmonella spp.* destaca como uno de los agentes patógenos más comunes, por lo que su detección oportuna y confiable en alimentos es esencial para prevenir posibles brotes. En este contexto, el presente trabajo tuvo como finalidad implementar el método de detección de *Salmonella spp.* basado en la norma ISO 6579-1:2017 dentro de un laboratorio de ensayo, con el objetivo de obtener la acreditación otorgada por el Instituto Nacional de Calidad (INACAL). Para lograrlo, se desarrollaron diversas acciones clave: se capacitó al personal técnico, se acondicionaron adecuadamente las instalaciones del laboratorio, se validó el método analítico y se participó activamente en programas de control de calidad. El proceso de implementación requirió el uso de equipos calibrados, condiciones ambientales controladas y la aplicación rigurosa de procedimientos estandarizados que permitieran obtener resultados consistentes y reproducibles. Asimismo, se emplearon medios de cultivo selectivos como el agar XLD y se aplicaron técnicas serológicas y bioquímicas para confirmar la presencia del patógeno. Como resultado de las acciones implementadas, el laboratorio logró obtener la acreditación oficial otorgada por INACAL, lo cual respalda su competencia técnica para llevar a cabo análisis microbiológicos en una amplia variedad de productos alimenticios. Este reconocimiento fortalece el sistema de vigilancia sanitaria a nivel nacional y asegura que los procesos de evaluación de alimentos se realicen conforme a los estándares exigidos a nivel internacional.

### **Palabras clave**

*Salmonella spp.*, inocuidad alimentaria, enfermedades transmitidas por alimentos, ISO 6579-1:2017, acreditación INACAL.

## **ABSTRACT**

Salmonellosis remains one of the leading foodborne illnesses, posing a persistent challenge to public health both in Peru and worldwide. *Salmonella spp.* is among the most common pathogenic agents, making its timely and reliable detection in food essential to preventing potential outbreaks. In this context, the objective of this study was to implement the detection method for *Salmonella spp.* based on ISO 6579-1:2017 within a testing laboratory, with the aim of obtaining accreditation from the National Institute of Quality (INACAL). To achieve this, several key actions were carried out: technical staff received proper training, laboratory facilities were adequately prepared, the analytical method was validated, and the laboratory actively participated in quality control programs. The implementation process required the use of calibrated equipment, controlled environmental conditions, and the strict application of standardized procedures to ensure consistent and reproducible results. Selective culture media such as XLD agar were used, along with serological and biochemical techniques to confirm the presence of the pathogen. As a result of the actions implemented, the laboratory obtained official accreditation granted by INACAL, which certifies its technical competence to carry out microbiological analyses on a wide range of food products. This recognition strengthens the national health surveillance system and ensures that food evaluation processes are conducted in accordance with international standards.

### **Keywords**

*Salmonella spp.*, food safety, foodborne diseases, ISO 6579-1:2017, INACAL accreditation

## I. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades transmitidas por alimentos siguen siendo un reto importante para la salud pública en todo el mundo. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS - 2024), cada año cerca de 600 millones de personas enferman tras consumir alimentos contaminados, y aproximadamente 420 mil fallecen por esta causa. Más allá del impacto en la salud, esta situación representa una pérdida estimada de 33 millones de años de vida saludable a nivel global. Los más afectados son los niños menores de cinco años, un grupo especialmente vulnerable, entre los cuales se registran alrededor de 125 mil muertes al año debido a estas enfermedades. Lo más preocupante es que muchas de estas afecciones podrían evitarse con medidas básicas como una adecuada higiene y una correcta manipulación de los alimentos (1).

Según la Organización Panamericana de la Salud (OPS), en 2022 se estimó que cada año alrededor de 77 millones de personas en la región sufren enfermedades provocadas por alimentos contaminados. Lamentablemente, más de 9 mil de ellas fallecen a causa de estas infecciones. Los niños < 5 años son especialmente vulnerables y representan cerca de 31 millones de los casos reportados y más de 2 mil muertes. Estas cifras evidencian el grave impacto que estas enfermedades tienen en la infancia y subrayan la urgencia de reforzar las estrategias de promoción, prevención y control para proteger la salud, especialmente de los más pequeños (2).

Entre los agentes etiológicos más frecuentes se encuentra *Salmonella spp.*, un género bacteriano perteneciente a la familia *Enterobacteriaceae*. Estas bacterias tienen forma de bastón, no forman esporas, y pertenecen al grupo de los gramnegativos. Además, pueden vivir tanto con oxígeno como sin él (anaerobios facultativos) y son capaces de moverse

gracias a unos filamentos llamados flagelos, que se distribuyen por toda su superficie (flagelos peritricos) (1). A la actualidad, se han descrito más de 2400 serotipos, de los cuales aproximadamente 200 se asocian a enfermedades en humanos (2).

En el Perú, la salmonelosis es una enfermedad endémica, es decir, se presenta de forma continua a lo largo del tiempo. Su persistencia está estrechamente vinculada a deficiencias en el saneamiento ambiental. Según reportes del Ministerio de Salud desde 1987, esta infección figura entre las seis principales causas de enfermedades infecciosas notificadas en el país, con una incidencia anual de entre 40 y 60 casos por cada 100,000 habitantes. Sin embargo, en zonas con bajo nivel socioeconómico y entre jóvenes adultos, las tasas pueden ser mucho más altas, alcanzando entre 300 y 500 casos por cada 100,000 personas. Se estima que alrededor del 35% de los afectados son < de 14 años. Además, entre el 1% y el 5% de quienes padecen una infección aguda por *Salmonella typhi* pueden convertirse en portadores crónicos sin presentar síntomas, siendo más frecuente esta condición en mujeres mayores de 25 años, con la vesícula biliar como el reservorio habitual (3).

La forma más común de contagio de *Salmonella spp.* en las personas es a través del consumo de alimentos que han sido contaminados, especialmente aquellos de origen animal como carnes, huevos, leche, así como sus derivados (4). Además, se ha reportado su presencia en productos vegetales contaminados por aguas residuales o contacto cruzado en superficies mal higienizadas. Además, alimentos procesados como harinas, chocolates, condimentos o suplementos nutricionales puede ser transporte del patógeno sino se cumple estrictos controles de calidad (5).

El riesgo de contraer salmonelosis en el Perú se intensifica en infantes menores de 5 años. Los programas estatales que brindan alimentos a millones de escolares en entidades públicas,

deben garantizar condiciones óptimas de inocuidad alimentaria. Un brote en dicho contexto, puede contener consecuencias sanitarias, sociales y económicas de gran magnitud.

Frente a esta situación, se hace fundamental reforzar los sistemas de control de calidad en los alimentos, implementando métodos de análisis confiables que permitan detectar con precisión la presencia de microorganismos peligrosos en los productos que llegan a los consumidores. En este contexto, los laboratorios de ensayo cumplen un papel clave, ya que son los encargados de verificar que los alimentos que se comercializan sean seguros y no representen un peligro para la salud de toda la comunidad.

Uno de los métodos más reconocidos y aceptados a nivel mundial para detectar *Salmonella spp.* es el establecido por la norma ISO 6579-1:2017. Esta norma proporciona una guía detallada para llevar a cabo todo el proceso de identificación del patógeno, desde su aislamiento hasta su confirmación. El procedimiento puede aplicarse a distintos tipos de muestras, como alimentos, productos de origen animal y muestras ambientales. Comienza con una fase de pre-enriquecimiento en un medio no selectivo, continúa con el uso de medios específicos para favorecer el crecimiento de *Salmonella*, y finaliza con la siembra en medios diferenciales y la aplicación de pruebas bioquímicas que permiten confirmar con precisión la presencia del microorganismo (6).

Para que este método pueda aplicarse correctamente, es fundamental contar con un sistema de gestión de calidad que lo respalde de manera sólida. En ese contexto, la norma NTP ISO/IEC 17025:2017 establece los lineamientos que deben seguir los laboratorios de ensayo y calibración para demostrar su competencia técnica. Esta norma incluye aspectos esenciales como la validación de los métodos utilizados, la trazabilidad de los resultados, una gestión documental precisa y la implementación de controles de calidad tanto internos como

externos. Además, fomenta una cultura de mejora continua que contribuye a obtener resultados confiables y repetibles. Cumplir con estos requisitos no solo garantiza la calidad del trabajo realizado, sino que también representa un paso clave para que el laboratorio pueda alcanzar la acreditación oficial.

En el Perú, el proceso de acreditación de laboratorios está a cargo del Instituto Nacional de Calidad (INACAL), la entidad encargada de asegurar que estos centros cumplan con los estándares técnicos establecidos a nivel internacional. Obtener la acreditación por parte de INACAL no solo confirma la competencia técnica del laboratorio, sino que también genera confianza entre los clientes del sector público y privado. Además, este reconocimiento contribuye de manera importante al fortalecimiento de los sistemas de vigilancia sanitaria y a una mayor seguridad alimentaria en el país. En este contexto, el presente Trabajo de Suficiencia Profesional tiene como objetivo principal implementar el método de detección para *Salmonella spp.* siguiendo los lineamientos de la norma ISO 6579-1:2017 dentro de un laboratorio de ensayo. Esta implementación forma parte de los preparativos necesarios para avanzar hacia la acreditación por parte de INACAL. El proceso incluye la estandarización de procedimientos, la adquisición de insumos y materiales certificados, la capacitación del equipo técnico, la validación del método y la participación en programas externos de aseguramiento de la calidad (7).

La implementación de este método de detección de *Salmonella spp.* permitió al laboratorio del presente estudio ofrecer servicios de análisis microbiológico con altos niveles de confiabilidad, beneficiando a la industria alimentaria y programas sociales de gran alcance.

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. *Salmonella spp.*

*Salmonella* es un género de bacterias que agrupa a varios patógenos relevantes tanto en el campo clínico como en el alimentario. Estas bacterias, que pertenecen a la familia Enterobacteriaceae, tienen forma de bastón, no producen esporas y se caracterizan por su gran capacidad de adaptación a diferentes ambientes, gracias a un metabolismo versátil que les permite desarrollarse con o sin oxígeno, es decir, son anaerobias facultativas. Muchas de sus cepas cuentan con factores de virulencia que les facilitan invadir células del intestino, evadir las defensas del organismo y causar infecciones que pueden ser tanto intestinales como sistémicas. Todo esto hace que *Salmonella* sea un agente de preocupación constante para la salud pública y la seguridad alimentaria (2).

Una de las características más destacables de *Salmonella spp.* es su notable capacidad para adaptarse a distintos entornos, lo que le permite persistir en una amplia gama de condiciones ambientales. Esta flexibilidad le da una ventaja significativa para sobrevivir tanto en alimentos y superficies como en tejidos vegetales y organismos vivos. Puede resistir condiciones ácidas activando mecanismos internos de defensa, ajustar su metabolismo según la disponibilidad de nutrientes, e incluso formar biopelículas: comunidades bacterianas protegidas por una matriz que las hace más resistentes a desinfectantes, antibióticos y otros agentes externos. Además, estas bacterias se comunican entre sí mediante señales químicas en un proceso llamado *quorum sensing*, lo que les permite coordinar comportamientos colectivos como la expresión de genes de virulencia o la formación de estas estructuras protectoras. La notable capacidad adaptativa que presenta *Salmonella* la convierte en un desafío permanente para la garantía de la inocuidad alimentaria y el control microbiológico.

Esta característica le permite persistir en diversos entornos, lo que complejiza su detección y control dentro de la cadena alimentaria (8, 9, 10, 11).

Actualmente, se conocen más de 2,650 serotipos diferentes de *Salmonella*, también llamados serovares, los cuales se agrupan principalmente en dos especies: *Salmonella enterica* y *Salmonella bongori*. Entre ellas, *S. enterica* es la más importante desde el punto de vista clínico y epidemiológico, ya que es responsable de la mayoría de las infecciones que afectan tanto a personas como a animales (12). La forma en que se clasifican estos serotipos se basa en las características antigénicas que presentan en su superficie, como el antígeno somático (O), el flagelar (H) y, en algunos casos, el capsular (Vi). Este sistema de clasificación se organiza según el esquema de Kauffmann–White, una herramienta esencial para diferenciar entre los numerosos serovares. La estandarización y actualización de esta clasificación es responsabilidad de la Organización Mundial de la Salud (OMS), en coordinación con el Centro Colaborador para Referencia e Investigación de *Salmonella spp.* del Instituto Pasteur de París. Gracias a este esfuerzo internacional, se mantiene un sistema de referencia confiable que permite estudiar, comparar y controlar la circulación de esta bacteria en todo el mundo (13, 14).

Se considera que existirá un aumento en las tasas de infección *por Salmonella* a medida que aumenten las temperaturas ambientales, debido al cambio climático, y podrían conducir a alrededor de 1000 casos adicionales anualmente y un aumento significativo en los costos de atención médica y vigilancia para 2050. La temperatura ambiente impacta directamente en la tasa de replicación de *Salmonella*, lo que lleva a una mayor incidencia de la enfermedad. La capacidad del patógeno para sobrevivir en condiciones secas y polvorrientas lo hace capaz

de persistir en alimentos para animales y entornos de procesamiento de alimentos con baja humedad (15).

Se ha corroborado que *Salmonella* puede mantenerse viva por periodos prolongados en alimentos con baja humedad. Tal como se observa en la Tabla 1, distintos serotipos logran sobrevivir durante meses en productos secos. Esta capacidad representa un riesgo particular en especias y hierbas que se consumen en todo el mundo, ya que, si llegasen a contaminarse, la bacteria puede permanecer activa por mucho tiempo. Además, debido al comercio internacional de estos productos, *Salmonella* podría cruzar fronteras y expandirse a distintos países, generando posibles brotes a gran escala. (16).

**Tabla 1.** Tiempos de supervivencia de *Salmonella* en ambientes de baja actividad de agua

<b>Alimento</b>	<b>Serotipo de <i>Salmonella</i></b>	<b>Tiempos de supervivencia</b>
Productos lácteos en polvo	<i>S. infantis</i> , <i>S. typhimurium</i> <i>S. eastbourne</i>	≤ 10 meses
Pasta de superficie plástica desecada	<i>S. typhimurium</i> SL 1344, <i>S. infantis</i> , <i>S. typhimurium</i> , <i>S. eastbourne</i>	< 100 semanas ≤ 12 meses
Chocolate con leche	<i>S. infantis</i> , <i>S. typhimurium</i> , <i>S. eastbourne</i>	> 9 meses a 20 °C
Chocolate amargo	<i>S. eastbourne</i>	≤ 9 meses a 20°C
Halva	<i>S. enteritidis</i>	> 8 meses a temperatura de refrigeración
Manteca de maní	<i>S. agona</i> , <i>S. enteritidis</i> , <i>S. michigan</i> , <i>S. montevideo</i> , <i>S. myphimurium</i>	≤ 24 semanas a 5°C ≤ 6 semanas a 21°C
Pimentón en polvo	Múltiples serotipos	> 8 meses

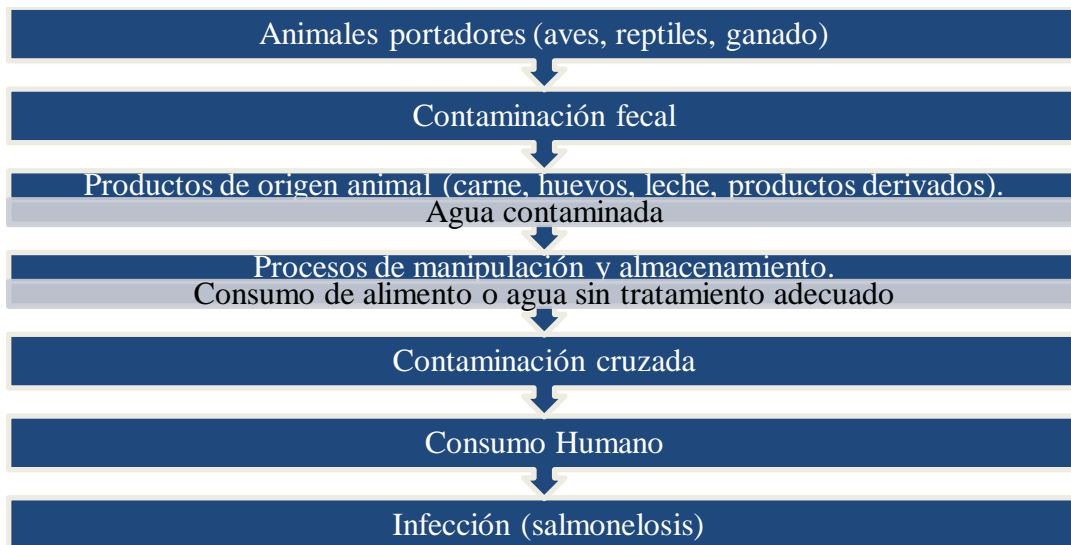
Fuente: Ruiz MJ, Ramallo G, Colello R, Villalobo C, Monteavaro C, Etcheverría A, et al.

(9)

Desde una perspectiva de salud pública, *Salmonella entérica subsp. entérica* es la principal responsable de los casos de salmonelosis tanto en personas como en animales. Esta bacteria puede provocar desde molestias digestivas leves, como una gastroenteritis, hasta enfermedades más serias y potencialmente peligrosas, como la fiebre tifoidea. La vía de contagio más común de *Salmonella* es a través del consumo de alimentos contaminados. No obstante, el contagio también puede ocurrir al estar en contacto directo con animales portadores de la bacteria o al tocar superficies contaminadas, que funcionan como medios de transporte del patógeno. (17).

La salmonelosis es una de las enfermedades transmitidas por alimentos más comunes en todo el mundo y supone un riesgo especial para los grupos más vulnerables. Entre los grupos más vulnerables se encuentran los niños en edad temprana, los adultos mayores, las mujeres embarazadas y aquellas personas cuyo sistema inmunológico está comprometido o debilitado, quienes pueden presentar complicaciones más graves ante la infección. Estos segmentos de la población presentan un mayor riesgo de desarrollar cuadros clínicos severos debido a la menor capacidad de su sistema inmunológico para combatir la infección. La gravedad de la enfermedad también puede incrementarse en función de la cantidad de bacterias ingeridas y de las condiciones sanitarias del entorno.

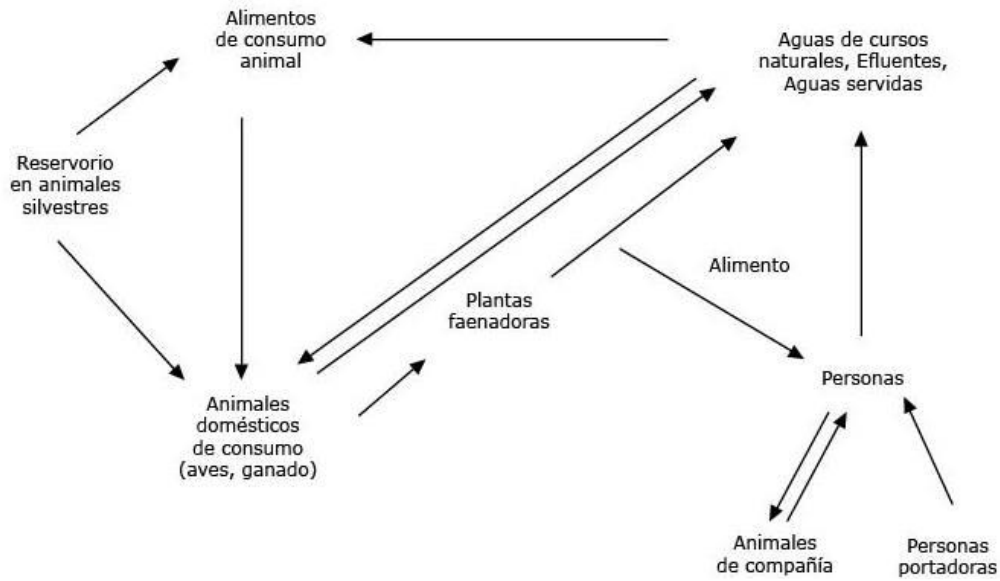
**Figura 1.** Vía de transmisión de *Salmonella spp.* en humanos



Fuente: Elaboración propia

*Salmonella typhi* y *Salmonella paratyphi* afectan exclusivamente a los seres humanos, por lo que su transmisión depende directamente del contacto con personas infectadas o con portadores crónicos asintomáticos. La fiebre tifoidea, provocada por ciertas cepas de *Salmonella*, es más frecuente en países en desarrollo, donde factores como el rápido crecimiento poblacional, la urbanización desordenada, el deficiente manejo de residuos y la escasa disponibilidad de agua potable generan un entorno propicio para su transmisión. Por otro lado, las infecciones causadas por otras formas de *Salmonella*, conocidas como no tifoideas, suelen deberse al consumo de alimentos contaminados, especialmente los de origen animal. El recorrido completo de cómo se transmite esta bacteria se muestra en la figura 2.

**Figura 2. Ciclo de transmisión de *Salmonella spp***



Fuente: Balta I, Lemon J, Murnane C, Pet I, Vintila T, McCleery D, et al. (10)

## 2.2. Relevancia de la detección de *Salmonella spp.* en alimentos

Detectar la presencia de *Salmonella spp.* en los alimentos es fundamental, ya que este patógeno representa un serio riesgo para la salud de la comunidad. Su hallazgo en productos destinados al consumo indica un incumplimiento de las normas internacionales de inocuidad alimentaria, como las establecidas por la FAO, la OMS y el Codex Alimentarius. Por esta razón, contar con métodos microbiológicos precisos y confiables es clave para identificar a tiempo cualquier posible contaminación, impedir que alimentos peligrosos lleguen a los consumidores y reducir el riesgo de brotes de enfermedades transmitidas por alimentos (18).

En este sentido, la vigilancia microbiológica sistemática es una herramienta esencial para garantizar la calidad sanitaria de los alimentos, particularmente en programas sociales y escolares, donde los consumidores finales son grupos vulnerables, como niños y adolescentes.

### **2.3.Epidemiología de *Salmonella***

La fiebre entérica, causada principalmente por *Salmonella typhi* y *paratyphi*, sigue siendo endémica en muchas regiones de Asia, África, América Latina, el Medio Oriente y Europa del Este. En países como EE.UU. y varios del continente europeo, los casos de infección por *Salmonella* son menos comunes y, en su mayoría, están vinculados a viajes internacionales. Sin embargo, en regiones como India, Pakistán e Indonesia, las tasas de incidencia superan los 100 casos por cada 100,000 habitantes al año. En muchas naciones en desarrollo, especialmente en África subsahariana, la ausencia de sistemas adecuados de diagnóstico y vigilancia dificulta conocer con precisión la verdadera magnitud del problema. Las infecciones por *Salmonella* no tifoidea (NTS) también siguen siendo un problema de salud pública mundial. En África, estas infecciones son particularmente graves en niños pequeños, personas con VIH o malaria, y se asocian a altas tasas de mortalidad. Por su parte, el Medio Oriente y el norte de África reportan un aumento de casos, sobre todo en niños, mientras que en América Latina la fiebre tifoidea es endémica, con focos importantes en Colombia y Brasil. En EE.UU., aunque el número de infecciones es elevado, los brotes recientes han estado marcados por cepas resistentes a múltiples antibióticos y alimentos contaminados como chocolate, cebolla y productos cárnicos. En Europa, la salmonelosis continúa siendo una de las zoonosis más comunes, con *S. enteritidis* y *S. typhimurium* como los serotipos predominantes, y su prevalencia ha sido influida por factores como la pandemia, el sistema de vigilancia sanitaria y el comercio de alimentos. A nivel global, la principal vía de transmisión sigue siendo el consumo de alimentos o agua contaminados, así como el contacto con animales infectados, lo que resalta la importancia del control en toda la cadena alimentaria (19).

**Tabla 2.** Resumen de enfermedades diarreicas causadas *por Salmonella* a nivel mundial (2019-2022).

Año	Serotipo de <i>Salmonella</i> entérica	Número de casos	Fuente del país	Fuente(s) de alimento
2018	Concordia	N / A	Israel	Productos de tahini
2018	Serovar no identificado	N / A	Australia	Sándwich de pollo
2019	Serovar no identificado	N / A	EE.UU.	aves de corral de traspatio
2021	Oranienburg	1040	EE.UU.	Cebolla
2022	Typhimurium	324	Europa y EE.UU.	productos de chocolate
2022	Enteritidis	N / A	Canadá	Exposición a ratones vivos
2017 y 2019	Serovares múltiples	325	Estados Unidos	Papayas Maradol enteras y frescas
2019	Heidelberg	164 (48,5%)	Provincia del Noroeste, Sudáfrica	Almuerzo escolar en una escuela primaria pública diurna
2019	Newport	25	Suecia	Cangrejos de río cocidos congelados importados en salmuera de eneldo
2019	Oranienburg	26	Estados Unidos (14 estados)	Contacto con tortugas mascotas
2019	Seis serovares diferentes: Ámsterdam, La Habana, Kintambo, Mbandaka, Orión y Senftenberg)	121	Cinco países de la UE/EEE	Productos importados a base de sésamo (originarios de Siria)

Fuente: Teklemariam A. et. al. (19)

#### 2.4. Métodos de detección de *Salmonella* spp.

Existen diversas formas de detectar la presencia de *Salmonella* spp., pero los estudios coinciden en que los métodos más utilizados siguen siendo el cultivo microbiológico y las pruebas bioquímicas, especialmente cuando se trata de analizar tejidos o muestras fecales. Para ser verdaderamente efectivo, un método de detección debe ser altamente sensible (capaz de identificar incluso pequeñas cantidades del patógeno) y específico (evitando falsos positivos), además de ser práctico, rápido de aplicar y accesible en cuanto a costos (13).

Dentro de los métodos de detección de *Salmonella spp.* Tenemos el método de cultivo tradicional "gold estándar" para detectar *Salmonella spp.* Sin embargo, la larga demora para la detección de *Salmonella* empleando el método estándar es una desventaja significativa que tendrá un impacto sustancial en el transporte de alimentos a los mercados (Wang et al., 2021) (20).

Otra técnica ampliamente utilizada para detectar *Salmonella* es la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), la cual se ha convertido en una herramienta valiosa en el análisis genético a nivel global. En el caso específico de *Salmonella spp.*, esta prueba permite amplificar el gen *invA*, un marcador asociado a su capacidad de invasión, lo que facilita una detección rápida, precisa y específica del patógeno en diversas muestras (Luigi, Rojas, & Valbuena, 2015) (13).

El ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) es una herramienta ampliamente utilizada para la detección rápida de *Salmonella*, ya que permite identificar la interacción entre antígenos y anticuerpos con una muy baja probabilidad de resultados falsos positivos. Por su parte, los inmunoensayos de flujo lateral (LFIA) se han consolidado como métodos eficaces para análisis rápidos en el punto de atención, debido a que son fáciles de usar, rápidos, económicos y no requieren personal altamente especializado ni equipos complejos. Otra técnica importante es la separación inmunomagnética (IMS), que mejora la sensibilidad de los análisis, acorta el tiempo necesario para el enriquecimiento de las muestras y minimiza la interferencia causada por componentes de los alimentos. Esta técnica ha demostrado ser eficaz y se ha combinado con éxito con otros métodos, incluido el ELISA (Bai et al., 2023) (20).

## **2.5. Control de calidad microbiológico en la industria alimentaria**

El control microbiológico de calidad cumple una función esencial en la protección de la salud pública, ya que busca garantizar que los alimentos que llegan al consumidor sean seguros y no representen riesgos para la salud. Este control se lleva a cabo a lo largo de toda la cadena de producción: desde la recepción de materias primas, pasando por el procesamiento y almacenamiento, hasta la distribución del producto final. Entre las pruebas más comunes se encuentran la detección de microorganismos patógenos como *Salmonella spp.*, *Listeria monocytogenes* y *E. coli*, además del análisis de indicadores de higiene como los coliformes y las bacterias aerobias mesófilas (21).

Para que un sistema de control microbiológico sea realmente efectivo, no basta con aplicar buenas prácticas de laboratorio (BPL) y utilizar métodos validados. También es clave que el personal técnico reciba una formación constante, ya que esto asegura la correcta ejecución de los procedimientos establecidos y una interpretación adecuada de los resultados obtenidos. Además, es necesario validar los métodos de análisis dentro del propio laboratorio, considerando las características particulares de los distintos tipos de alimentos que se evalúan, con el fin de garantizar la confiabilidad de los resultados. Un sistema robusto debe incluir también la participación en ensayos de aptitud, la implementación de acciones correctivas ante resultados no conformes, la trazabilidad completa de los análisis realizados y una comunicación clara y oportuna tanto con los clientes como con las autoridades regulatorias (21).

## **2.6. Norma ISO 6579-1:2017**

La norma ISO 6579-1:2017 establece un procedimiento estandarizado para la detección de *Salmonella spp.* en alimentos destinados al consumo humano, alimentos para animales y muestras ambientales. Este método sigue una secuencia técnica bien estructurada. Todo comienza con una etapa de pre-enriquecimiento en un medio general que permite que las bacterias se recuperen sin condiciones restrictivas. Luego, se continúa con un enriquecimiento selectivo utilizando caldos específicos, como Rappaport-Vassiliadis y tetracionato, que favorecen el crecimiento de *Salmonella* por encima de otras bacterias. A continuación, se realiza la siembra en medios selectivos y diferenciales, como XLD o Hektoen, lo que permite observar características típicas de esta bacteria. Finalmente, se llevan a cabo pruebas bioquímicas para confirmar su presencia, y si es necesario, se procede con la serotipificación para identificar el serotipo específico (3).

La aplicación constante de esta norma ayuda a unificar los procedimientos entre distintos laboratorios, lo que facilita comparar resultados y definir puntos de partida claros para validar nuevas tecnologías o métodos analíticos. Además, establece los controles de calidad necesarios durante el análisis —como los controles positivos, negativos y blancos del medio— asegurando así que los datos obtenidos sean confiables y precisos (3).

## **2.7. Norma NTP-ISO/IEC 17025:2017**

La norma NTP-ISO/IEC 17025:2017 establece los principios esenciales que deben cumplir los laboratorios de ensayo y calibración para demostrar que cuentan con la capacidad técnica necesaria y que los resultados que entregan son fiables y exactos. Esta norma no solo aborda temas técnicos del trabajo de laboratorio, sino también aspectos clave del sistema de gestión.

Entre sus principales exigencias se encuentran: una estructura organizativa bien definida, personal calificado, uso correcto de equipos, validación de métodos, trazabilidad de las mediciones, presentación clara de los resultados y un control de calidad riguroso en todas las etapas del proceso (4).

Obtener la acreditación según esta norma representa un reconocimiento a nivel internacional de que el laboratorio cuenta con la competencia técnica necesaria para generar resultados confiables y precisos. Para lograrlo, el laboratorio debe evidenciar que trabaja de forma coherente y ordenada, siguiendo procedimientos documentados, con personal capacitado y con un sistema de control de calidad sólido que fomente la mejora continua (4).

## **2.8. Instituto Nacional de Calidad (INACAL)**

En el Perú, la institución responsable de acreditar a los laboratorios es INACAL, una entidad que forma parte del Ministerio de la Producción. A través de su Dirección de Acreditación, INACAL evalúa si los laboratorios cumplen con los estándares técnicos establecidos por la norma ISO/IEC 17025:2017. Si se verifica que todo está en orden, se les otorga una acreditación oficial que respalda, de manera formal, que el laboratorio cuenta con la capacidad técnica para emitir resultados válidos y confiables (5).

Contar con la acreditación de INACAL brinda a los laboratorios la posibilidad de ofrecer servicios reconocidos a nivel global. Esto les permite participar activamente en programas de vigilancia y control sanitario, y contribuir a mejorar la calidad en sectores clave como el alimentario, farmacéutico o ambiental. En particular, cuando se trata de análisis microbiológicos de alimentos, esta acreditación se vuelve especialmente importante para garantizar que se cumplan los estándares sanitarios y regulatorios del país. (5).

## **2.9.Objetivo General**

Implementar el método de detección para *Salmonella spp* mediante la Norma ISO 6579-1:2017 en un laboratorio de ensayo para su acreditación ante INACAL.

## **2.10. Objetivos Específicos**

- Capacitar al personal en la Norma ISO 6579-1:2017 para detección de *Salmonella spp*.
- Acondicionar el laboratorio de acuerdo a la Norma ISO 6579-1:2017 para detección de *Salmonella spp*.
- Determinar la presencia o ausencia de *Salmonella Spp* en muestra de alimentos según la Norma ISO 6579-1:2017.

### III. METODOLOGIA Y PROCEDIMIENTOS

#### 3.1. Capacitación al personal del laboratorio en la Norma ISO 6579-1:2017 para detección de *Salmonella spp.*

Se realizó capacitaciones al personal de laboratorio con base en la norma ISO/IEC 17025:2017 para poder obtener la acreditación para la detección de *Salmonella spp.* mediante la Norma ISO 6579-1:2017 en un laboratorio de ensayo en los siguientes temas:

- **Capacitación en incertidumbre de medición:** Se realizó la capacitación del personal de laboratorio, para cumplir con los requerimientos establecidos por INACAL. Esta actividad formativa fue diseñada con base en la norma ISO/IEC 17025:2017, y tuvo como propósito asegurar que los analistas comprendan y apliquen correctamente los principios que permiten estimar con precisión el grado de confianza en los resultados obtenidos durante los ensayos. A lo largo del proceso, se trabajó en reconocer todas las posibles fuentes de variación que pueden afectar una medición, y se enseñó cómo cuantificarlas y combinarlas de forma adecuada para obtener una estimación de incertidumbre técnicamente sólida. También se reforzaron conceptos clave como estadística, trazabilidad y modelos de medición, usando ejercicios prácticos y casos reales —como pruebas con muestras inoculadas— que permitieron aplicar directamente lo aprendido en las actividades diarias del laboratorio. Esta capacitación resultó fundamental para fortalecer las habilidades del equipo técnico, unificar los procedimientos de medición y asegurar que los resultados generados por el laboratorio sean confiables, comparables y avalados por estándares reconocidos tanto a nivel nacional como internacional (22).

- **Capacitación en Aseguramiento de la Calidad:** se realizó con el fin de fortalecer las habilidades necesarias para mantener un sistema de gestión sólido y alineado con los requisitos de la norma ISO/IEC 17025:2017. Fue un paso clave dentro del camino hacia la acreditación ante INACAL, ya que permitió asegurar que los resultados obtenidos por el laboratorio tengan respaldo técnico y sean confiables. A lo largo del proceso formativo, se abordaron temas como el diseño e implementación de procedimientos operativos claros, el manejo adecuado de registros técnicos, la planificación y ejecución de auditorías internas, así como la participación en ensayos de aptitud. Todo ello permitió que el personal no solo entienda los requisitos de la norma, sino que también aprenda a aplicarlos de manera práctica y sostenida en su trabajo diario. Incorporar esta formación dentro del proyecto ha sido esencial para que las actividades analíticas se desarrollen con un enfoque centrado en la mejora continua, la trazabilidad y la responsabilidad técnica, asegurando resultados precisos, reproducibles y útiles para la toma de decisiones (23).
- **La capacitación en verificación y validación de métodos:** Se brindó capacitación al personal del laboratorio en temas esenciales como la verificación y validación de métodos, siguiendo los lineamientos de la norma ISO/IEC 17025:2017, con el fin de fortalecer sus capacidades técnicas y garantizar que los resultados analíticos sean confiables. Esta formación tuvo como objetivo asegurar que los procedimientos utilizados para la detección de *Salmonella spp.* sean adecuados, precisos y cumplan con los requisitos técnicos establecidos, asegurando así la calidad de los resultados obtenidos. Durante las sesiones, se abordaron aspectos fundamentales como la planificación de la validación, la identificación de parámetros clave —como la repetibilidad, exactitud y especificidad—, y el uso de herramientas estadísticas para

un análisis riguroso de los datos. Además, se desarrollaron ejercicios prácticos que facilitaron la aplicación directa de los conocimientos en el entorno real del laboratorio. Esta capacitación fue parte integral de la metodología del proyecto, ya que permitió implementar métodos técnicamente confiables, consistentes y verificables, fortaleciendo la validez de los resultados y alineando el trabajo del laboratorio con estándares internacionales de calidad analítica (22).

- **Capacitación en la Norma ISO/IEC 17025:2017 para Laboratorios:** Se realizó una capacitación especializada para el personal técnico del laboratorio, centrada en los principios de la norma ISO/IEC 17025:2017, con el propósito de fortalecer sus competencias y garantizar la confiabilidad de los resultados. Esta formación fue clave para preparar al equipo frente a los requerimientos establecidos por INACAL en el marco del proceso de acreditación. Durante el entrenamiento, se abordaron temas esenciales como la gestión de calidad en el entorno de laboratorio, el desarrollo de habilidades técnicas, la validación de métodos analíticos y la importancia de asegurar la trazabilidad y el control riguroso en cada medición. También se hizo hincapié en mantener la imparcialidad y la objetividad en cada etapa del trabajo técnico. Gracias a esta experiencia formativa, el equipo no solo comprendió a fondo la estructura y exigencias de la norma, sino que logró aplicar mejoras prácticas en su labor diaria, consolidando un entorno de trabajo más organizado, transparente y alineado con estándares internacionales, lo que a su vez reforzó la solidez técnica del estudio y la confiabilidad de sus resultados (24).

### **3.2. Acondicionamiento del laboratorio de acuerdo con la Norma ISO 6579-1:2017 para detección de *Salmonella spp.***

Se aplicó el método descrito en la norma ISO 6579-1:2017, ampliamente reconocido por su confiabilidad y estandarización en la detección de *Salmonella spp.* en alimentos para consumo humano y animal. Esta metodología también contempla su uso en muestras ambientales provenientes de áreas de procesamiento y manipulación, así como en muestras primarias tomadas directamente de zonas de producción, como excretas, hisopos o polvo. Para llevar a cabo este procedimiento de forma adecuada, fue necesario contar con un laboratorio debidamente equipado —con incubadoras, estufas, agitadores y microscopios— que permitieran mantener las condiciones controladas de temperatura y humedad requeridas durante el análisis. Además, se aseguró que el personal técnico estuviera capacitado en técnicas microbiológicas, desde la preparación de medios de cultivo hasta el manejo seguro de microorganismos patógenos. Durante la ejecución, se estandarizaron cuidadosamente todas las etapas del proceso: desde la preparación y uso del medio selectivo MSR/V (Medio Semisólido Rappaport-Vassiliadis modificado), hasta la definición de tiempos y condiciones de incubación, siembra y análisis. Esta organización detallada y el cumplimiento riguroso de los procedimientos permitieron obtener resultados precisos, reproducibles y técnicamente sustentados. En conjunto, la correcta implementación de la norma no solo permitió cumplir con los estándares técnicos requeridos por INACAL, sino que también fortaleció la capacidad operativa del laboratorio, haciéndolo apto para participar activamente en programas de vigilancia sanitaria y control de calidad, respaldando sus resultados con evidencia científica confiable (25).

**Equipamiento adecuado:** Se consideró fundamental que el laboratorio cuente con el equipamiento necesario para garantizar condiciones óptimas durante todo el proceso de análisis microbiológico. Para ello, se hizo uso de incubadoras calibradas, capaces de mantener temperaturas constantes y precisas, lo cual es esencial para favorecer el desarrollo adecuado de las muestras en las distintas etapas del ensayo. También se utilizaron estufas de calor seco, para garantizar una esterilización adecuada de los materiales utilizados. Para la preparación de los medios de cultivo, se emplearon autoclaves que permitieron realizar la esterilización bajo condiciones controladas, asegurando la eliminación efectiva de microorganismos. Además, se contó con agitadores mecánicos que facilitaron la mezcla uniforme de soluciones, cultivos y reactivos cuando fue necesario, lo que contribuyó a mantener la consistencia y uniformidad en cada uno de los procedimientos realizados en el laboratorio. Finalmente, el uso de microscopios de laboratorio facilitó la observación detallada de las características morfológicas de los microorganismos, permitiendo su identificación con mayor precisión. Este conjunto de equipos no solo respaldó la calidad técnica de los análisis, sino que también contribuyó directamente a la fiabilidad de los resultados obtenidos (25).

**Tabla 3.** Materiales y equipos usados con su medida e incertidumbre

<b>Equipo</b>	<b>Parámetros Medidos y Tolerancia de Calibración</b>
Estufa	170°C ± 10°C
Autoclave	121°C ± 3°C
Incubadora calibrada	37°C ± 1°C
Baño de agua	41.5°C ± 1°C
Baño de agua	47°C a 50°C
Baño de agua	37°C ± 1°C
Refrigerador Calibrado	5°C ± 3°C
Congeladora calibrada	-20°C ± 5°C
Pipetas graduadas de expulsión total	De 1 ml y 10 ml, graduadas en divisiones de 0.1ml y 0.5ml respectivamente

pH metro	Capaz de medir 0.01 unidades de pH a una temperatura entre 20°C y 25°C, con una precisión de $\pm 0.1$ unidades de pH
Licuadaora	8000 rpm a 45000rpm
Balanza	Capac. 3100g y sensibilidad de 0.1g
Tubos de ensayo	13x100mm con tapa rosca
Tubos de ensayo	16x100mm con tapa rosca o a presión
Placas Petri	90mm
Asas de siembra y Anclas de platino-iridio o niquel-plomo	3mm de diámetro aprox.
Pipetas pasteur	-
Frascos de vidrio autoclave	250ml y 500ml de capacidad

Fuente: Elaboración propia

**Condiciones ambientales controladas:** Se mantuvo un control estricto sobre las condiciones ambientales del laboratorio, con especial énfasis en la temperatura y la humedad relativa. Estos parámetros fueron supervisados de forma continua para garantizar que no afectaran los análisis microbiológicos, minimizando el riesgo de contaminación cruzada y asegurando la integridad de las muestras durante todo el proceso. Además, se organizó adecuadamente el espacio de trabajo, estableciendo zonas definidas para cada fase del proceso: desde la preparación de las muestras, pasando por la incubación, hasta el análisis final de los resultados. Esta separación física entre actividades críticas no solo contribuyó al orden y la trazabilidad, sino que también permitió trabajar de forma más segura y eficiente, minimizando riesgos y garantizando resultados confiables (25).

**Tabla 4.** Condiciones ambientales de las áreas del laboratorio de microbiología

Ambientales	Condición Ambiental	Posible efecto negativo si no se controla	Criterio de aceptación	Frecuencia de Control
Sala de siembra	Esterilidad biológica de superficies	Contaminación de nuestras durante el análisis	$< 1.0$ ufc/cm <sup>2</sup> (Numeración de Aerobios Mesófilos)	Trimestral
	Esterilidad biológica del aire	Contaminación de nuestras durante el análisis	$\leq 15$ ufc/15min	Por análisis

	Temperatura	Aumento del crecimiento microbiano	18 – 27°C	Por análisis
	Humedad relativa	Deficiente funcionamiento de balanza de precisión	Máximo 80%	Por análisis
Sala de incubación	Esterilidad biológica de superficies	Contaminación de nuestras durante el análisis	< 1.0 ufc/cm <sup>2</sup> (Numeración de Aerobios Mesófilos)	Trimestral
	Esterilidad biológica del aire	Contaminación de nuestras durante el análisis	≤ 15 ufc/15min	Por análisis
	Temperatura	Poca estabilidad en el funcionamiento de las incubadoras	18 – 27°C	Por análisis
	Humedad relativa	Deficiente funcionamiento de balanza de precisión	Máximo 80%	Por análisis
Sala de preparación de medios de cultivo	Esterilidad biológica de superficies	Contaminación de muestras durante el análisis	< 1.0 ufc/cm <sup>2</sup> (Numeración de Aerobios Mesofilos)	Trimestral
	Temperatura	Pérdida de características de los medios de cultivos	18-27°C	Diariamente
Sala de lavado	Esterilidad biológica del aire	Contaminación de muestras durante el análisis	≤ 15 ufc/15min	Mensual
Recepción de muestras	Esterilidad biológica del aire	Contaminación de muestras para el análisis	≤ 15 ufc/15min	Mensual
	Temperatura	Poca estabilidad en el funcionamiento de las incubadoras	18-27°C	Diariamente
Almacén de muestras	Temperatura	Deterioro de muestras	18-27°C	Diariamente
	Humedad relativa	Deterioro de muestras	Máximo 80 %	Diariamente

Laboratorio de fisicoquímica	Temperatura	Deterioro de muestras	18-27°C	Diariamente
	Humedad relativa	Deterioro de muestras	Máximo 80 %	Diariamente

Fuente: Elaboración Propia

**Capacitación del personal:** Se dio prioridad a la capacitación especializada del personal en técnicas microbiológicas enfocadas en la detección precisa de *Salmonella spp.* Esta formación no solo reforzó sus competencias técnicas, sino que también les permitió tomar conciencia del valor de aplicar procedimientos estandarizados rigurosamente en cada fase del análisis, garantizando así resultados más confiables y seguros. Además, se incluyeron contenidos relacionados con bioseguridad y manejo seguro de agentes microbiológicos, esenciales para minimizar riesgos tanto para el personal como para el entorno de trabajo. Mediante la capacitación, los técnicos adquirieron mayor seguridad y precisión en su trabajo, además de una mayor conciencia sobre los riesgos asociados al manejo de microorganismos patógenos. Esto no solo fortaleció su desempeño, sino que también elevó la calidad y confiabilidad de todo el proceso analítico. Finalmente, para la detección de *Salmonella*, se estableció el uso de un entorno correspondiente al Nivel de Bioseguridad 1, adecuado para este tipo de análisis. (25).

**Preparación y uso de medios de cultivo selectivos:** Se emplearon medios especializados como el medio semisólido Rappaport-Vassiliadis modificado (MSRV), diseñado específicamente para favorecer el crecimiento de *Salmonella*. Su preparación se realizó siguiendo procedimientos estandarizados, bajo un estricto control de calidad, lo que permitió garantizar su efectividad y confiabilidad durante el análisis microbiológico (25).

**Procedimientos estandarizados:** Se garantizó el cumplimiento de los procedimientos estandarizados en cada etapa del análisis microbiológico, tal como lo exige la norma ISO 6579-1:2017. Esto incluyó la aplicación precisa de los protocolos establecidos para la toma de muestras, incubación, aislamiento e identificación de *Salmonella spp.* Cada fase del proceso fue realizada bajo condiciones controladas, minimizando errores y asegurando la repetibilidad de los resultados. Además, se llevó un registro detallado de todas las actividades desarrolladas (ver Anexos 5 y 6), desde el ingreso de la muestra hasta la emisión del informe final, lo cual permitió mantener la trazabilidad del análisis. Esta documentación no solo respalda la solidez técnica de los ensayos, sino que también facilita el seguimiento del desempeño del laboratorio y contribuye a la preparación para auditorías internas o externas (25).

**Garantía de calidad:** Para asegurar la confiabilidad de los resultados, se implementaron controles internos y se participó en ensayos de aptitud. Además, los equipos fueron calibrados siguiendo un cronograma previamente establecido por el laboratorio (ver Anexo 7), garantizando así su correcto funcionamiento (25).

Se cumplieron rigurosamente las buenas prácticas de laboratorio, desde el uso y mantenimiento adecuado de los equipos, hasta el control de su desempeño. Esto incluyó asegurar que cada instrumento estuviera limpio, en buenas condiciones y operando correctamente según su propósito. Al inicio de cada jornada se realizaban revisiones básicas para verificar que los equipos funcionaran dentro de los parámetros técnicos requeridos, y durante su uso se supervisaba su rendimiento para detectar cualquier falla o desviación a tiempo. Los instrumentos de medición y monitoreo —como termómetros, balanzas, incubadoras y estufas— fueron calibrados conforme a las normas nacionales vigentes y sometidos a verificaciones o recalibraciones periódicas. Todo el proceso fue debidamente

documentado, incluyendo tanto los procedimientos aplicados como los resultados obtenidos, lo cual garantizó la trazabilidad y el cumplimiento de los estándares exigidos por las normas técnicas y las entidades de acreditación (26).

Asimismo, se realizaron inspecciones y mantenimientos regulares para asegurar que los equipos estuvieran en óptimas condiciones de uso y fueran seguros para el personal. La frecuencia de estas revisiones dependía de cómo se utilizaba el equipo y del nivel de precisión requerido en los análisis (26).

Es importante señalar que la norma técnica no establece una frecuencia fija de calibración o verificación, ya que esta debe definirse considerando el tipo de equipo, la intensidad de su uso y las recomendaciones del fabricante. Solo en los casos en que un equipo cumple una función crítica dentro del análisis, se exigen frecuencias mínimas obligatorias. También se tomó en cuenta que los equipos deben estar diseñados e instalados de forma que faciliten su operación diaria, lo cual permite un acceso sencillo para su limpieza, desinfección, calibración y mantenimiento. Esta disposición no solo optimiza el flujo de trabajo en el laboratorio, sino que también reduce el riesgo de contaminación cruzada y garantiza un entorno seguro y controlado para el personal técnico (26).

Se consideró que las referencias a la incertidumbre de medición aplican exclusivamente al desempeño de los equipos utilizados, y no al método analítico en su conjunto. Por ello, se revisaron los requisitos de precisión técnica para cada instrumento, tomando como base los márgenes de tolerancia definidos para asegurar que los equipos operen de forma controlada y confiable en su uso cotidiano. Esta precisión está estrechamente relacionada con la incertidumbre metrológica del equipo, según los principios establecidos en la Guía ISO 99, lo cual permite evaluar si el instrumento cumple con los estándares necesarios para el tipo de análisis microbiológico que se realiza. En el caso particular de los equipos destinados al

control de temperatura, como estufas e incubadoras, se verificó tanto la estabilidad como la uniformidad térmica antes de su primer uso y tras cualquier reparación o ajuste que pudiera modificar su rendimiento. Estas acciones garantizaron que las condiciones analíticas se mantuvieran dentro de los parámetros aceptables y que los resultados generados fueran técnicamente válidos y reproducibles (20).

### **3.3. Materiales para el método de detección de *Salmonella spp.***

Se consideró el cumplimiento de los lineamientos de la norma ISO 7218:2007, la cual señala que todo laboratorio microbiológico debe contar con un conjunto básico de material de vidrio que permita realizar con seguridad y eficacia los procedimientos analíticos. Este material incluye elementos como tubos de ensayo, matraces, vasos de precipitados y frascos, diseñados para resistir el uso constante y mantener la integridad durante procesos de calentamiento, mezclado o almacenamiento de sustancias. Dado que estos instrumentos están en contacto directo con las muestras, se enfatizó la necesidad de que todo el vidrio de laboratorio se mantenga perfectamente limpio y esterilizado, para evitar cualquier riesgo de contaminación que pueda comprometer la calidad de los resultados. La correcta preparación y conservación de estos materiales no solo previene interferencias en las pruebas microbiológicas, sino que también asegura la confiabilidad de los datos generados y el cumplimiento de los estándares técnicos requeridos (26).

Se garantizó la disponibilidad y correcto uso de equipos especializados, indispensables para asegurar la validez y reproducibilidad de los análisis microbiológicos realizados. En primer lugar, se hizo uso de sistemas de esterilización tanto en seco (como estufas) como en húmedo (autoclaves), los cuales fueron operados conforme a los requisitos técnicos establecidos por las normas aplicables. Adicionalmente, se emplearon estufas de secado capaces de operar

entre 25 °C y 50 °C, ideales para el secado seguro de materiales sin comprometer su integridad. Para la incubación de cultivos microbiológicos, se dispuso de incubadoras que trabajaron dentro del rango requerido de 34 °C a 38 °C, con una precisión de  $\pm 1$  °C. Asimismo, se utilizaron baños María e incubadoras especiales ajustadas a temperaturas específicas como 37 °C, 41,5 °C o 45 °C, fundamentales para el desarrollo óptimo de bacterias como *Salmonella*. Estos equipos, cuando correspondía, incluían agentes antibacterianos para minimizar el riesgo de contaminación cruzada, dado el bajo umbral infeccioso de ciertos microorganismos. En cuanto al almacenamiento de insumos y muestras, se aseguraron las condiciones mediante refrigeradoras calibradas a aproximadamente 5 °C  $\pm 3$ °C y congeladoras con capacidad de mantener temperaturas cercanas a -20 °C  $\pm 5$ °C, siempre dentro de márgenes aceptables que aseguren la conservación de reactivos y materiales biológicos. El trabajo también involucró el uso de instrumentos de manipulación microbiológica como asas estériles de diversos tamaños, que facilitaron la siembra e inoculación de muestras. Para la medición precisa de parámetros fisicoquímicos, se empleó un pH-metro calibrado con una exactitud de  $\pm 0,1$  unidades entre 20 °C y 25 °C, asegurando lecturas confiables en soluciones acuosas. Finalmente, se utilizaron materiales estériles como tubos, matraces y frascos con tapas seguras para contener muestras, así como pipetas automáticas y graduadas de diferentes capacidades (de 0,1 ml a 25 ml), y placas de Petri estériles de 90 mm o, en casos específicos, de mayor tamaño (hasta 140 mm), necesarias para el cultivo y análisis de microorganismos (26).

### **3.4.Preparación de la muestra**

- Preparación muestra y pre-enriquecimiento en medio líquido NO selectivo: Se realizó la preparación inicial de las muestras diluyéndolas en Agua Peptonada

Tamponada (APT) en una proporción 1:10, usando 225 ml por cada 25 gramos de muestra, con el fin de recuperar posibles bacterias estresadas como *Salmonella spp.* El procedimiento se efectuó en bolsas estériles bajo condiciones de bioseguridad, asegurando una manipulación adecuada. Esta fase es clave para garantizar resultados confiables en los siguientes pasos del análisis microbiológico (27).

- Enriquecimiento en medio selectivo semisólido: Se emplearon placas de agar MSR/V a temperatura ambiente, asegurándose de que su superficie estuviera seca antes de la siembra. Con una pipeta estéril, se aplicaron tres gotas separadas de 0,1 ml del caldo APT sobre la placa, siguiendo un procedimiento cuidadoso para evitar contaminación y permitir la migración de *Salmonella*, según lo establecido por la norma ISO 6579-1:2017 (27).
- Aislamiento en agar selectivo: Se realizó el aislamiento de *Salmonella spp.* empleando medios sólidos selectivos como el agar XLD y el sulfito bismuto (SB), con el propósito de aumentar la precisión en la identificación de colonias sospechosas. En el medio de cultivo XLD, las colonias típicas de *Salmonella* se observan con un centro negro rodeado por un halo rojizo y ligeramente transparente, producto de la reacción del indicador presente en el agar. Sin embargo, cuando se trata de cepas que no producen sulfuro de hidrógeno (H<sub>2</sub>S), como *Salmonella paratyphi A*, las colonias adoptan un color rosado con un centro de tono rosa más intenso. En cambio, las cepas que fermentan lactosa forman colonias amarillas, que pueden presentar o no un centro negro, dependiendo de la cepa. La siembra se realizó de forma cuidadosa, empleando asas estériles y trabajando por separado en cada medio, siempre bajo estrictas condiciones de bioseguridad. Debido a que el aspecto de las colonias puede variar según la cepa y el lote del medio utilizado, esta etapa fue

realizada por personal capacitado, lo que permitió una evaluación precisa antes de proceder con la confirmación del microorganismo (Ver Anexo 8) (27).

### **3.5. Detección de la presencia o ausencia de *Salmonella spp* en muestra de alimentos según la Norma ISO 6579-1:2017.**

- Selección de colonias para pruebas bioquímicas: Se seleccionaron colonias sospechosas de *Salmonella spp.* para su análisis bioquímico. Las pruebas se incubaron bajo condiciones estandarizadas ( $36\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$  por  $24 \pm 3$  horas), siguiendo los parámetros establecidos para asegurar resultados confiables. En particular, la prueba de  $\beta$ -galactosidasa con discos ONPG se realizó conforme a las instrucciones del fabricante. Este proceso garantizó un perfil bioquímico claro y reproducible para cada cepa evaluada (27).

Los resultados de las pruebas bioquímicas y serológicas ayudaron a confirmar si el aislado pertenece al género *Salmonella spp.* (Ver Anexo 8)

- Interpretación de las pruebas bioquímicas
  - Prueba de fermentación en Agar TSI (Triple Sugar Iron): Esta prueba permite evaluar si la bacteria puede fermentar glucosa, lactosa o sacarosa, y si es capaz de producir gas o ácido sulfhídrico ( $\text{H}_2\text{S}$ ). Los resultados se interpretan según el cambio de color en el medio y la presencia de burbujas o ennegrecimiento del agar.

Zona profunda (fondo del tubo):

- ✓ Amarillo: Fermentación de glucosa positiva.
- ✓ Rojo o sin cambio: Fermentación de glucosa negativa.

- ✓ Negro: Producción de H<sub>2</sub>S.
- ✓ Presencia de burbujas o ruptura del agar: Producción de gas.

Zona superficial (pico de flauta):

- ✓ Amarillo: Fermentación de lactosa y/o sacarosa positiva.
- ✓ Rojo o sin cambio: Lactosa y sacarosa negativas.

Las cepas típicas de *Salmonella* suelen generar una reacción alcalina en la superficie del medio TSI (color rojo) y una reacción ácida en el fondo (color amarillo), acompañadas frecuentemente por la formación de gas y, en cerca del 90 % de los casos, por la producción de sulfuro de hidrógeno (H<sub>2</sub>S), que se manifiesta como un oscurecimiento o ennegrecimiento del medio. Sin embargo, en casos poco comunes donde se trate de una *Salmonella* que fermenta lactosa, como algunas cepas atípicas, la parte superior del tubo puede volverse amarilla. Por esta razón, es importante no basar la confirmación de *Salmonella* únicamente en los resultados del TSI, ya que deben complementarse con otras pruebas para una identificación precisa.

- Prueba de descarboxilación en Agar LIA (Lysine Iron Agar): Evalúa la capacidad de la bacteria para descarboxilar el aminoácido lisina y detectar la producción de H<sub>2</sub>S. Los cambios se observan visualmente:
  - ✓ Positivo: Medio color violeta (*Salmonella* típica).
  - ✓ Negativo: Medio color amarillo.
- Prueba de ureasa en caldo: Determina si la bacteria puede hidrolizar la urea. Un resultado positivo se manifiesta por un cambio de color de naranja a cereza. Las cepas de *Salmonella* son generalmente negativas, ya que no hidrolizan urea.

- Prueba de  $\beta$ -galactosidasa (ONPG): Evalúa la presencia de la enzima  $\beta$ -galactosidasa.
  - ✓ Positivo: Color amarillo.
  - ✓ Negativo: Sin cambio de color

*Nota: Esta prueba es opcional.*

- Motilidad, Indol y Ornitina en medio MIO: Esta prueba permite observar tres características: la capacidad de movimiento bacteriano (motilidad), la producción de indol a partir del triptófano y la descarboxilación de ornitina.
  - ✓ Motilidad: Difusión del crecimiento desde la línea de inoculación.
  - ✓ Indol positivo: Formación de un anillo rojo tras la adición del reactivo.
  - ✓ Indol negativo: Anillo de color marrón o amarillo.
  - ✓ Ornitina positiva: Medio se torna violeta.
  - ✓ Ornitina negativa: Medio se mantiene amarillo.
- Confirmación basada en la identificación de antígenos somáticos (O) de *Salmonella*. Durante la etapa de confirmación serológica, se aplicaron pruebas de aglutinación con suero polivalente A-I & Vi (de empresa española Vircel) para identificar cepas del género *Salmonella spp.* Si se observaba aglutinación, se procedía a usar sueros monovalentes desde el grupo A hasta el I, permitiendo determinar el serogrupo específico. Este procedimiento se realizó en condiciones controladas y por personal especializado, asegurando resultados confiables y útiles para la clasificación epidemiológica (27).
- Confirmación basada en la identificación de antígeno flagelar (H) de *Salmonella*. Como parte de la confirmación serológica en la metodología aplicada, se identificó el antígeno flagelar (H) de *Salmonella* mediante pruebas de aglutinación.

Inicialmente, se verificó si existía autoaglutinación en un tubo de control, ya que su presencia invalidaba la prueba. Si no se detectaron signos de floculación, se procedió con la lectura del tubo de prueba: la presencia de flóculos indicó un resultado positivo. Opcionalmente, se empleó un test de látex como método complementario, lo que permitió reforzar la fiabilidad de los resultados obtenidos (27).

A continuación, en la Tabla 4 muestra los resultados de varias pruebas bioquímicas en medios como TSI, LIA, MIO, Urea y ONPG, que se usaron para diferenciar cepas de *Salmonella* y otros bacilos gram negativos, como *Citrobacter freundii*, a partir de cómo se comportan metabólicamente. Estas pruebas permitirán identificar especies y subespecies de *Salmonella* observando reacciones específicas, como la producción de gas, la formación de ácido, la presencia de sulfuros (H<sub>2</sub>S), la capacidad de moverse, generar indol o descomponer ciertos aminoácidos como la ornitina.

**Tabla 5.** Interpretación de las pruebas bioquímicas

Medio / Prueba	TSI			LIA			MIO			Agar Urea	ONPG	Microorganismo
	T/S	GAS	H <sub>2</sub> S	T/S	GAS	H <sub>2</sub> S	Mov	Indol	Ornitina			
K/A	+	+	K/K	-	+	+	-	-	-	-	-	<i>Salmonella</i> subsp. I
K/A	-	-	K/K	+	-	-	-	-	-	-	-	<i>S. choleraesuis</i>
K/A	-	+	K/K	+	+	+	-	-	-	-	-	Otras <i>Salmonella</i>
K/A	-	-	K/A	+	-	-	-	-	-	-	-	<i>Salmonella typhi</i>
K/A	-	-	K/A	+	-	-	-	-	-	-	-	<i>Salmonella spp</i>
K/A	-	-	K/A	-	-	-	-	-	-	-	-	<i>S. paratyphi A</i>
K/A	-	+	K/A	-	+	-	-	-	-	-	-	<i>S. paratyphi A</i>
K/A	-	+	K/A	-	+	-	-	-	-	-	-	<i>S. typhi</i> (excepción)
A/A	+	+	K/K	+	+	-	-	-	-	-	+	<i>Salmonella</i> subg. III (Arizona)
K/A	+	+	K/K	+	+	+	-	-	-	-	+	<i>Salmonella</i> subsp. I
K/A	+	+	K/K	+	+	-	-	-	-	-	+	<i>Salmonella</i> subg. III (Arizona)

Medio / Prueba	TSI		LIA			MIO			Agar Urea	ONPG	Microorganismo	
	T/S	GAS	H <sub>2</sub> S	T/S	GAS	H <sub>2</sub> S	Mov	Indol				Ornitina
K/A	+	+	K/K	+	+	-	-	-	-	-	+	<i>Salmonella spp</i>
K/A	+	+	K/A	+	+	-	-	-	-	-	+	<i>Citrobacter freundii</i> *

Nota: \* puede dar reacciones similares. T/S: indica el patrón ácido/alcalino entre la parte superior e inferior del medio TSI; T: Tope del tubo (Slant) → parte inclinada (aeróbica) y S: Seno o fondo del tubo (Butt) → parte profunda (anaeróbica). Fuente: Norma Española UNE-EN ISO 6579-1:2017 para detección de *Salmonella spp*.

En la Tabla 5 se presenta una guía práctica para entender cómo interpretar los resultados de las pruebas bioquímicas y serológicas realizadas a cepas que podrían pertenecer al género *Salmonella*. Para ello, se tienen en cuenta tres aspectos fundamentales: el tipo de reacción bioquímica que presentan, si ocurre o no autoaglutinación, y la detección de antígenos específicos como O, H o Vi.

**Tabla 6.** Interpretación de resultados bioquímicos y serológicos para identificación de *Salmonella*

Reacciones Bioquímicas	Autoaglutinación	Reacciones Serológicas	Interpretación
Típicas	No	Antígenos O, Vi o H positivos (y Vi positivo si es analizado)	Cepas deben ser consideradas como <i>Salmonella</i>
Típicas	No	Antígenos O y/o H negativos	<i>Salmonella</i> presuntiva
Típicas	Sí	No analizables debido a reacción de autoaglutinación	<i>Salmonella</i> presuntiva
Reacciones Atípicas	—	—	No son consideradas como <i>Salmonella</i>

Fuente: Norma Española UNE-EN ISO 6579-1:2017 para detección de *Salmonella spp*.

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. Resultados

En la Tabla 7 se muestran las jornadas de capacitación realizadas como parte del proceso de preparación del laboratorio para lograr la certificación según la norma ISO 6579-1:2017, centrada en la detección de *Salmonella spp.* Estas sesiones estuvieron dirigidas al equipo técnico y se llevaron a cabo entre diciembre de 2021 y enero de 2022, cada una con una duración aproximada de tres horas. Los contenidos abordados fueron clave para garantizar la calidad del trabajo analítico. Todas las capacitaciones se completaron satisfactoriamente, lo que evidencia el compromiso del equipo con la formación continua y el fortalecimiento de sus competencias en microbiología.

**Tabla 7.** Capacitaciones realizadas para obtener la certificación en la Norma ISO 6579-1:2017 para detección de *Salmonella Spp.*

Ítems	Tema de capacitación	Dirigida a	Fecha y duración	Realizada	
				Si	No
1	Capacitación en incertidumbre de medición	Personal laboratorista	12-2021 3 horas	X	
2	Capacitación en Aseguramiento de la Calidad	Personal laboratorista	12-2021 3 horas	X	
3	Capacitación en verificación y validación de métodos	Personal laboratorista	01-2022 3 horas	X	
4	Capacitación en la Norma ISO/IEC 17025:2017 para Laboratorios	Personal laboratorista	01-2022 3 horas	X	

Fuente: Elaboración propia

La tabla 8 muestra que el laboratorio de ensayo logró la acreditación del INACAL para realizar análisis de detección de *Salmonella spp.* según la norma internacional UNE-EN ISO 6579-1:2017, actualizada con la enmienda A1:2021. Esta norma establece el método estándar para identificar *Salmonella* en distintos productos alimenticios, incluyendo modificaciones recientes como ajustes en las temperaturas de incubación y composición de medios de cultivo.

La acreditación cubre una amplia gama de alimentos, desde carnes, huevos, frutas, hortalizas, papas y fideos, hasta productos más elaborados como chocolates, quesos madurados, alimentos precocidos, en polvo, deshidratados, productos pesqueros y alimentos listos para el consumo o recalentamiento. Esto refleja la capacidad técnica del laboratorio para asegurar la calidad microbiológica de diversos productos alimentarios, tanto crudos como procesados.

**Tabla 8.** Acreditación de Laboratorio de ensayo en el INACAL

N°	Tipo Ensayo	Norma Referencia	Año	Título
6	Detección de <i>Salmonella spp.</i>	UNE-EN ISO 6579-1:2017 / A1:2021	2017	Microbiología de la cadena alimentaria. Método horizontal para la detección, enumeración y serotipado de <i>Salmonella</i> . Parte 1: Detección de <i>Salmonella spp.</i> Modificación 1: Ampliación del rango de temperaturas de incubación, modificación del estado del Anexo D y corrección de la composición de los medios MSRv y SC. (ISO 6579-1:2017/Amd 1:2020)
	Producto(s)			<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Alimento preparado con o sin tratamiento térmico</li> <li>✓ Carne y productos cárnicos</li> </ul>

- 
- ✓ Chocolates de leche, blanco para taza, de cobertura con o sin relleno y chocolate sucedáneo
  - ✓ Fideos
  - ✓ Fideos, pastas y masas
  - ✓ Frutas, hortalizas y frutos secos
  - ✓ Huevos y ovoproductos
  - ✓ Papa
  - ✓ Productos cocidos de consumo directo, como extruidos, expandidos, hojuelas instantáneas.
  - ✓ Productos cocidos de reconstitución instantánea como enriquecidos lácteos, sustitutos lácteos, mezclas fortificadas o no, harinas extruidas y sus mezclas o no, y/o fortificadas o no y/o azucaradas o no.
  - ✓ Productos crudos, deshidratados y/o precocidos que requieren cocción como hojuelas, harinas y sus mezclas o no, y/o fortificadas o no y/o azucaradas o no, sémolas, féculas y almidones.
  - ✓ Productos pesqueros crudos y listos para cocinar
  - ✓ Productos pesqueros listos para consumo y recalentar
  - ✓ Quesos madurados
  - ✓ Sémolas, féculas y almidones

---

Fuente: <https://aplicaciones.inacal.gob.pe/crtacre/>

La Tabla 9 recoge los resultados obtenidos tras aplicar pruebas a distintos alimentos inoculados, con el fin de verificar la efectividad del método de detección de *Salmonella spp.* basado en la norma ISO 6579-1:2017, siguiendo los lineamientos de la ISO 16140. Se evaluaron diversos tipos de productos alimenticios, y los resultados demostraron que el método tiene una alta capacidad para identificar la bacteria en diferentes matrices, lo que respalda su confiabilidad y utilidad dentro del control microbiológico del laboratorio.

**Tabla 9.** Muestras control de referencia para la detección de *Salmonella spp.* con la Norma ISO 6579-1:2017.

ALCANCE DEL MÉTODO (ISO 16140)		MUESTRAS INOCULADAS									
Producto Según Alcance	Producto Analizado	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10
1. Productos pesqueros listos para consumo y recalentar.	1. Pescado ahumado	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+
2. Alimento preparado con o sin tratamiento térmico	2. Ensalada César	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
3.- Frutas y vegetales	3. Mango picado	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+
	4. Papa seca	+	-	-	+	-	+	+	-	+	+
	5. Nueces de Brasil	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+
4. Frutas y vegetales procesados	6. Sémola	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-
	7. Hojuelas de avena	+	-	-	-	+	-	+	-	+	+
5.- Huevos y derivados	8. Huevo entero	+	-	+	+	-	+	+	+	-	+
6.- Productos cárnicos y sus derivados	9. Salchicha huachana	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+
	10. Carne picada envasada	+	-	+	+	-	+	+	-	-	+

Fuente: Elaboración propia

En la tabla 10 se presenta los resultados del análisis de eficacia del método ISO 6579-1:2017 para detectar *Salmonella spp.* en diez productos alimenticios. A pesar de algunas variaciones individuales, todos los productos cumplieron con los criterios de la norma, alcanzando un 100% de eficacia y siendo clasificados como conformes, lo que respalda la confiabilidad del método en el control microbiológico.

**Tabla 10.** Análisis de Eficacia para la detección de *Salmonella spp.* con la Norma ISO 6579-1:2017 en cada una de las muestras.

<b>PRODUCTO ANALIZADO</b>	<b>CRITERIO REPETICIONES</b>	<b>RESULTADOS OBTENIDOS</b>	<b>EFICACIA</b>	<b>CONFORMIDAD</b>
<b>1</b>	1	+	100%	CONFORME
	2	-		
	3	+		
	4	+		
	5	+		
	6	+		
	7	+		
	8	-		
	9	-		
	10	+		
<b>2</b>	1	+	100%	CONFORME
	2	-		
	3	+		
	4	+		
	5	+		
	6	+		
	7	+		
	8	+		
	9	+		
	10	+		
<b>3</b>	1	+	100%	CONFORME
	2	-		
	3	+		
	4	-		

	5	+		
	6	-		
	7	+		
	8	+		
	9	+		
	10	+		
<hr/>				
<b>4</b>	1	+		
	2	-		
	3	-		
	4	+		
	5	-	100%	CONFORME
	6	+		
	7	+		
	8	-		
	9	+		
	10	+		
<hr/>				
<b>5</b>	1	+		
	2	-		
	3	+		
	4	+		
	5	+	100%	CONFORME
	6	-		
	7	+		
	8	+		
	9	+		
	10	+		
<hr/>				
<b>6</b>	1	+		
	2	-		
	3	+		
	4	+		
	5	+	100%	CONFORME
	6	+		
	7	+		
	8	+		
	9	-		
	10	-		
<hr/>				
<b>7</b>	1	+		
	2	-	100%	CONFORME
	3	-		

	4	-		
	5	+		
	6	-		
	7	+		
	8	-		
	9	+		
	10	+		
<hr/>				
	1	+		
	2	-		
	3	+		
	4	+		
<b>8</b>	5	-	100%	CONFORME
	6	+		
	7	+		
	8	+		
	9	-		
	10	+		
<hr/>				
	1	+		
	2	-		
	3	+		
	4	+		
<b>9</b>	5	+	100%	CONFORME
	6	+		
	7	-		
	8	+		
	9	+		
	10	+		
<hr/>				
	1	+		
	2	-		
	3	+		
	4	+		
<b>10</b>	5	-	100%	CONFORME
	6	+		
	7	+		
	8	-		
	9	-		
	10	+		

Fuente: Elaboración propia

## 4.2. Discusión

Respecto a las capacitaciones al personal, se brindó una formación integral al equipo del laboratorio en temas fundamentales como la estimación de la incertidumbre, el aseguramiento de la calidad, la validación de métodos analíticos y el cumplimiento de los requisitos de la norma ISO/IEC 17025:2017. Estas capacitaciones no solo fortalecieron las competencias técnicas del personal, sino que tuvieron un impacto directo en el éxito de la implementación del método de detección de *Salmonella spp.* Debido a ello, el laboratorio logró la acreditación por parte de INACAL, un logro que refleja claramente la importancia de contar con profesionales bien preparados. Tal como señala la teoría, incluso los protocolos mejor diseñados pueden fallar si no se aplican correctamente. Por eso, contar con un equipo técnico bien capacitado no es solo una exigencia normativa, sino un pilar fundamental para asegurar la confiabilidad de los resultados, reducir errores y mantener una cultura de mejora continua en el trabajo microbiológico.

Al comparar estos avances con otras propuestas metodológicas descritas en la literatura, como el estudio de Martino et al. (2023), que sugiere una estructura documental basada en la norma ISO 16140-3:2021 para la verificación de métodos microbiológicos cualitativos, se aprecia una coincidencia clave: ambos enfoques resaltan la importancia de contar con personal técnicamente competente, procedimientos claros y una documentación bien estructurada, alineada con los requisitos normativos. En ambos casos, la implementación efectiva de la norma ISO 6579-1 no solo se sustentó en el cumplimiento técnico del protocolo, sino en la comprensión profunda de los procedimientos y en la capacidad del equipo para aplicarlos con criterio y precisión. Esto confirma que ningún protocolo, por bueno que sea, puede garantizar resultados fiables si no está respaldado por profesionales bien preparados. Así, la formación continua del personal y el uso de herramientas

documentadas para la verificación se convierten en garantías esenciales para demostrar competencia técnica y cumplir con las exigencias de los sistemas de acreditación modernos (28).

La capacitación del personal del laboratorio es fundamental para cumplir con los estándares de la norma ISO 6579-1:2017 y avanzar hacia la acreditación del método de detección de *Salmonella spp.* Esta norma se aplica tanto a alimentos destinados al consumo humano y animal como a muestras ambientales relacionadas con su producción y manipulación. En ella se detallan procedimientos técnicos bien estructurados, que van desde el pre-enriquecimiento de las muestras, el uso de medios selectivos, hasta la confirmación de cepas sospechosas mediante pruebas bioquímicas y serológicas. Contar con un equipo bien entrenado es esencial para llevar a cabo estos procesos de forma correcta y asegurar resultados confiables. La capacitación no solo mejora la precisión del trabajo diario en el laboratorio, sino que también refuerza la validez técnica de los análisis realizados. Diferentes estudios en laboratorios especializados han demostrado que este método cuenta con altos niveles de sensibilidad y especificidad, permitiendo identificar con precisión la presencia del microorganismo. Por ello, se considera una herramienta robusta y eficaz, especialmente útil para los laboratorios que buscan alcanzar una certificación oficial y asegurar la calidad de sus servicios (27).

Brindar capacitación al personal es fundamental para que puedan ejecutar con confianza y precisión los procedimientos establecidos por la norma. Esta preparación se refleja directamente en la calidad de los resultados, que se vuelven más exactos y confiables. Esto cobra especial relevancia cuando se busca detectar la presencia de *Salmonella spp.* en diversos tipos de alimentos o en muestras del entorno, donde una identificación precisa es clave para garantizar la seguridad y el cumplimiento sanitario (29).

La formación del personal técnico es un pilar clave para aplicar correctamente los procedimientos establecidos en la norma ISO 6579-1:2017 y avanzar hacia la acreditación del método para la detección de *Salmonella spp.* Esta normativa internacional se aplica no solo a alimentos para consumo humano y animal, sino también a muestras ambientales vinculadas a su producción y manipulación. En ella se describen con precisión cada una de las etapas del análisis, desde el pre-enriquecimiento, el uso de medios selectivos, hasta las pruebas bioquímicas y serológicas necesarias para confirmar la presencia del patógeno (27). Para ejecutar correctamente este protocolo, no basta con tener los equipos adecuados: es imprescindible contar con personal bien capacitado, que conozca el procedimiento a fondo y lo aplique con criterio. Una formación sólida mejora no solo la precisión del trabajo diario, sino también la confiabilidad de los resultados, lo cual es fundamental al detectar un microorganismo como *Salmonella spp.* en distintos tipos de matrices alimentarias o del entorno. Además, la capacitación continua permite que el equipo se mantenga actualizado frente a los avances en microbiología alimentaria, adaptándose a nuevas tecnologías y desafíos sin perder eficacia. Esto también ayuda a reducir errores, evitar repeticiones innecesarias de análisis y optimizar tanto el tiempo como los recursos del laboratorio (29). Otro aspecto esencial fue el acondicionamiento del laboratorio conforme a los estándares de la norma. Se diseñó un entorno técnicamente controlado donde factores como la temperatura, la humedad, la higiene y la organización del espacio se monitorearon de forma permanente. Se definieron áreas específicas para cada etapa del análisis, se utilizaron equipos calibrados con precisión y se aplicaron controles ambientales estrictos que evitaron la contaminación cruzada. Esta rigurosidad no solo permitió cumplir con los requisitos normativos, sino que también hizo el trabajo más seguro, eficiente y ordenado.

Implementar adecuadamente la norma ISO 6579-1:2017 permite obtener resultados sólidos y confiables en la detección de *Salmonella spp.* Esta guía incluye desde la preparación inicial de las muestras hasta la confirmación del patógeno con herramientas bioquímicas y serológicas. Para que todas estas etapas se desarrollen correctamente, el laboratorio debe contar con condiciones técnicas adecuadas, equipos calibrados, ambientes controlados y, sobre todo, un equipo humano competente. Este enfoque no solo mejora la calidad analítica, sino que facilita la acreditación ante organismos como INACAL, posicionando al laboratorio como una entidad técnica confiable, alineada con estándares internacionales (25) (30).

El tercer objetivo de este trabajo fue aplicar el método de detección de *Salmonella spp.* en condiciones reales, analizando diferentes tipos de alimentos. Este esfuerzo se consolidó al aplicar el método en condiciones reales, analizando alimentos como carnes, huevos, pescados, vegetales y productos procesados, todo según el protocolo de la norma. Los resultados fueron altamente satisfactorios: se logró un 100 % de eficacia en la detección de la bacteria, confirmando que cada etapa —desde el pre-enriquecimiento hasta las pruebas de confirmación— fue ejecutada con precisión. Esta eficacia fue el resultado de una planificación meticulosa, una infraestructura adecuada y un equipo técnico comprometido. Gracias a ello, el laboratorio logró la acreditación oficial de INACAL, validando su capacidad técnica y reconociendo su aporte en la vigilancia sanitaria y la inocuidad alimentaria. La detección precisa de *Salmonella spp.* es vital para proteger la salud pública y prevenir brotes por alimentos contaminados. Para lograrlo, los laboratorios se apoyan en métodos validados, como el descrito en la ISO 6579-1:2017, considerado un estándar de referencia a nivel internacional. Este protocolo no solo abarca la detección en alimentos para consumo, sino también en superficies y ambientes donde se manipulan. Además de este método convencional, existen tecnologías complementarias que han mejorado notablemente

la velocidad y precisión del análisis. Por ejemplo, el sistema Pathatrix, desarrollado por Thermo Fisher Scientific, utiliza un proceso de captura inmunomagnética para aislar los patógenos mediante recirculación. También destacan herramientas más recientes como los sensores impedimétricos con aptámeros diseñados específicamente para reconocer *Salmonella enteritidis*, que permiten detectar concentraciones muy bajas (alrededor de 600 UFC/mL) en apenas 10 minutos.

La combinación de métodos tradicionales con tecnologías emergentes refuerza la capacidad de los laboratorios para ofrecer resultados rápidos, confiables y científicamente respaldados, contribuyendo activamente a la seguridad alimentaria y a la protección de los consumidores (31, 32, 33).

## V. CONCLUSIONES

- La implementación del método para la detección de *Salmonella spp.*, conforme a los lineamientos de la norma ISO 6579-1:2017, se llevó a cabo de forma exitosa. Esto permitió que el laboratorio cumpliera rigurosamente con los requisitos técnicos exigidos, lo que resultó en la acreditación oficial por parte del Instituto Nacional de Calidad (INACAL) constituyendo un reconocimiento formal de la competencia técnica del laboratorio para ofrecer servicios analíticos confiables y con altos estándares de calidad.
- El personal técnico capacitado en temas fundamentales como el manejo de la incertidumbre en las mediciones, el aseguramiento de la calidad, la validación de métodos analíticos y la interpretación adecuada de los requisitos de la norma ISO/IEC 17025:2017 fue fundamental en el proceso de acreditación ante INACAL.
- El laboratorio fue adecuadamente acondicionado según requerimientos, lo cual fue esencial para garantizar un ambiente técnico óptimo para aplicar el método con la precisión requerida que permitió minimizar los márgenes de error, mantener la trazabilidad de los datos y asegurar la integridad de los resultados.
- Los ensayos realizados con distintas muestras alimentarias como carnes, pescados, frutas, vegetales, huevos y alimentos procesados permitieron comprobar de forma práctica la eficiencia del método implementado al 100% de conformidad para la detección de *Salmonella spp.* ratificando que el método posee una alta sensibilidad, especificidad y capacidad de reproducción.

## VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alfaro R. Aspectos relevantes sobre *Salmonella sp* en humanos. Rev Cuba Med Gen Integral [Internet]. septiembre de 2018 [citado 6 de junio de 2025];34(3). Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-21252018000300012](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-21252018000300012)
2. Cerrón B. Presencia de *Salmonella spp.* en huevos rosados para el consumo humano de mercados intermedios de Lima Metropolitana y Callao [Internet] [Tesis para optar el Título Profesional de: Médico Veterinario Zootecnista]. [Lima - Perú]: Universidad Peruana Cayetano Heredia; 2019 [citado 20 de mayo de 2025]. Disponible en: [https://repositorio.upch.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12866/7196/Presencia\\_CerronMercado\\_Brandy.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.upch.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12866/7196/Presencia_CerronMercado_Brandy.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
3. SANIPES. SANIPES. 2020 [citado 24 de abril de 2025]. Detección de *Salmonella spp.* – Informe de Ensayos de Aptitud 2020-I. Disponible en: [https://www.sanipes.gob.pe/archivos/ensayos\\_aptitud/Deteccion-de-Salmonella-SPP-2020-I.pdf](https://www.sanipes.gob.pe/archivos/ensayos_aptitud/Deteccion-de-Salmonella-SPP-2020-I.pdf)
4. Ministerio de Salud del Perú. MINSA. 2019 [citado 15 de abril de 2025]. Boletín Epidemiológico Nacional 2019, Semana Epidemiológica 15. Disponible en: <https://www.dge.gob.pe/portal/docs/vigilancia/boletines/2019/15.pdf>
5. Ministerio de Salud de Colombia. MINSALUD. 2017 [citado 10 de abril de 2025]. Abecé de las Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA). Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/PP/ET/abeceta-final.pdf>

6. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Food Safety. 2024 [citado 11 de abril de 2025]. About Four Steps to Food Safety. Disponible en: <https://www.cdc.gov/food-safety/es/prevention/como-prevenir-las-enfermedades-transmitidas-por-los-alimentos-con-cuatro-pasos-para-la-seguridad.html>
7. ISO/IEC 17025:2017(es). Organización Internacional de Normalización (ISO). 2017 [citado 5 de abril de 2025]. Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración. Disponible en: <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso-iec:17025:ed-3:v2:es>
8. Leyer GJ, Johnson EA. Acid adaptation promotes survival of *Salmonella spp.* in cheese. *Appl Environ Microbiol.* junio de 1992;58(6):2075-80.
9. Han M, Schierstaedt J, Duan Y, Nietschke M, Jechalke S, Wolf J, et al. *Salmonella enterica* relies on carbon metabolism to adapt to agricultural environments. *Front Microbiol.* 7 de septiembre de 2023;14:1213016.
10. Sholpan A, Lamas A, Cepeda A, Franco CM, Almaty Technological University, Almaty, Republic of Kazakhstan, Universidade de Santiago de Compostela, Lugo, Spain. *Salmonella spp.* quorum sensing: an overview from environmental persistence to host cell invasion. *AIMS Microbiol.* 2021;7(2):238-56.
11. Trampari E, Holden ER, Wickham GJ, Ravi A, Martins LDO, Savva GM, et al. Exposure of *Salmonella* biofilms to antibiotic concentrations rapidly selects resistance with collateral tradeoffs. *Npj Biofilms Microbiomes.* 11 de enero de 2021;7(1):3.
12. Sherris JC. Sherris, microbiología médica. Sexta edición. México: McGraw-Hill Educación; 2017.

13. Ruiz MJ, Ramallo G, Colello R, Villalobo C, Monteavaro C, Etcheverría A, et al. Diferentes métodos para aislamiento y detección de *Salmonella spp.* en canales porcinos. Rev Colomb Biotecnol. 1 de julio de 2018;20(2):117-23.
14. Jønsson R, Ingholt MM, Krogfelt KA. Fritz Kauffmann: innovator in microbial classification. APMIS. enero de 2025;133(1):e13504.
15. Balta I, Lemon J, Murnane C, Pet I, Vintila T, McCleery D, et al. The One Health aspect of climate events with impact on foodborne pathogens transmission. One Health. diciembre de 2024;19:100926.
16. Ehuwa O, Jaiswal AK, Jaiswal S. Salmonella, Food Safety and Food Handling Practices. Foods. 21 de abril de 2021;10(5):907.
17. Organización Mundial de la Salud. Organización Mundial de la Salud. 2018 [citado 14 de abril de 2025]. *Salmonella* (non-typhoidal). Disponible en: [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-\(non-typhoidal\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-(non-typhoidal))
18. Instituto Nacional de Calidad (INACAL). INACAL. 2024 [citado 22 de abril de 2025]. Proceso de Acreditación de Laboratorios. Disponible en: <https://www.gob.pe/inacal/>
19. Teklemariam AD, Al-Hindi RR, Albiheyri RS, Alharbi MG, Alghamdi MA, Filimban AAR, et al. Human Salmonellosis: A Continuous Global Threat in the Farm-to-Fork Food Safety Continuum. Foods. 23 de abril de 2023;12(9):1756.
20. Yang Q, Zu J, Zhang S, Liu C, Qin X, Xu W. An overview of rapid detection methods for *Salmonella*. Food Control. enero de 2025;167:110771.
21. Tortora GJ, Funke BR, Case CL. Introducción a la microbiología. 12a edición. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 2017.

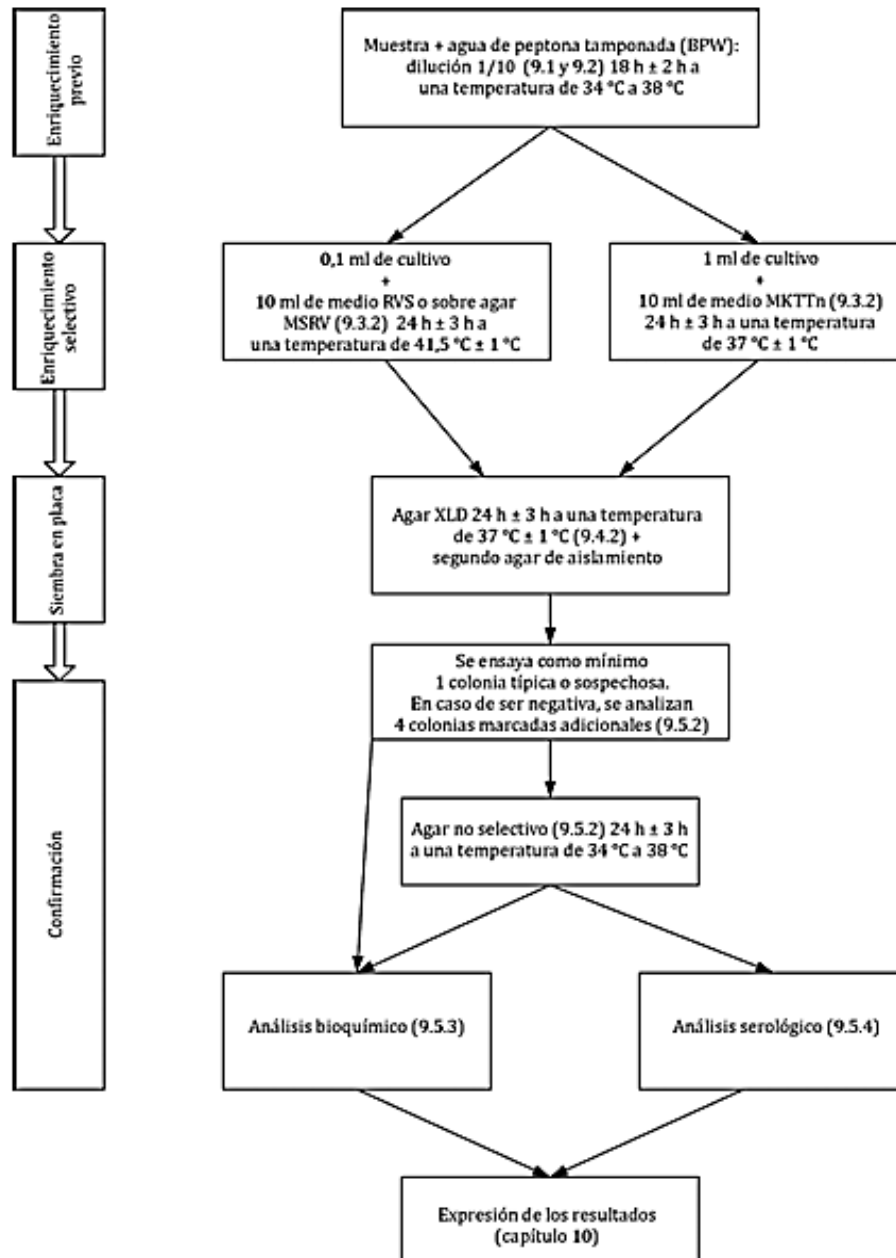
22. Klauenberg K, Harris P, Möhrke P, Pennecci F. The three most common needs for training on measurement uncertainty [Internet]. arXiv; 2024 [citado 9 de junio de 2025]. Disponible en: <https://arxiv.org/abs/2412.18616>
23. Zapata D, Llauradó M, Rauret G. Experience of implementing ISO 17025 for the accreditation of a university testing laboratory. *Accreditation Qual Assur.* 8 de junio de 2007;12(6):317-22.
24. Gutiérrez R. Un análisis de los cambios en la nueva inversión 2017 de ISO 17025 y en las directrices de INACAL y su efecto sobre laboratorios acreditados peruanos. *Rev Glob Manag.* 13 de enero de 2023;6(2):17-31.
25. Mooijman KA, Pielaat A, Kuijpers AFA. Validation of EN ISO 6579-1 - Microbiology of the food chain - Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella* - Part 1 detection of *Salmonella* spp. *Int J Food Microbiol.* enero de 2019;288:3-12.
26. International Organization for Standardization. Microbiology of food and animal feeding stuffs — General requirements and guidance for microbiological examinations - Norma ISO 7218:2007 [Internet]. 2007 [citado 6 de junio de 2025]. Disponible en: <https://cdn.standards.iteh.ai/samples/36534/dd625da88e864144bda5bb7cb12037e7/ISO-7218-2007.pdf>
27. International Organization for Standardization. Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella* — Part 1: Detection of *Salmonella* spp. Norma ISO 6579-1:2017 [Internet]. 2017 [citado 20 de marzo de 2025]. Disponible en:

<https://cdn.standards.iteh.ai/samples/56712/37da386eff674e07b35f9025371ee283/ISO-6579-1-2017.pdf>

28. Martino T, Leyva V, Ramón M, Puig Y, Ferrer Y. Procedimiento para la verificación de Métodos Microbiológicos cualitativos de referencia de la cadena alimentaria. *Rev Cuba Cienc Biológica*. 2023;54(1):248-60.
29. Accreditation Board of America. ABA. 2023 [citado 10 de junio de 2025]. Staff Training and Competence: A Crucial Element of ISO 17025 Compliance. Disponible en: <https://abofamerica.com/staff-training-and-competence-a-crucial-element-of-iso-17025-compliance/>
30. European Union Reference Laboratory for Salmonella. National Institute for Public Health and the Environment. 2020 [citado 9 de junio de 2025]. Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of Salmonella — Part 1: Detection of *Salmonella* spp. Disponible en: <https://www.eurlsalmonella.eu/en/methods/detection-of-salmonella>
31. Labib M, Zamay AS, Kolovskaya OS, Reshetneva IT, Zamay GS, Kibbee RJ, et al. Aptamer-Based Impedimetric Sensor for Bacterial Typing. *Anal Chem*. 2 de octubre de 2012;84(19):8114-7.
32. Mainar-Jaime RC, Andrés S, Vico JP, San Román B, Garrido V, Grilló MJ. Sensitivity of the ISO 6579:2002/Amd 1:2007 Standard Method for Detection of *Salmonella* spp. on Mesenteric Lymph Nodes from Slaughter Pigs. *J Clin Microbiol*. enero de 2013;51(1):89-94.
33. Patel A, Wolfram A, Desin TS. Advancements in Detection Methods for *Salmonella* in Food: A Comprehensive Review. *Pathogens*. 7 de diciembre de 2024;13(12):1075.

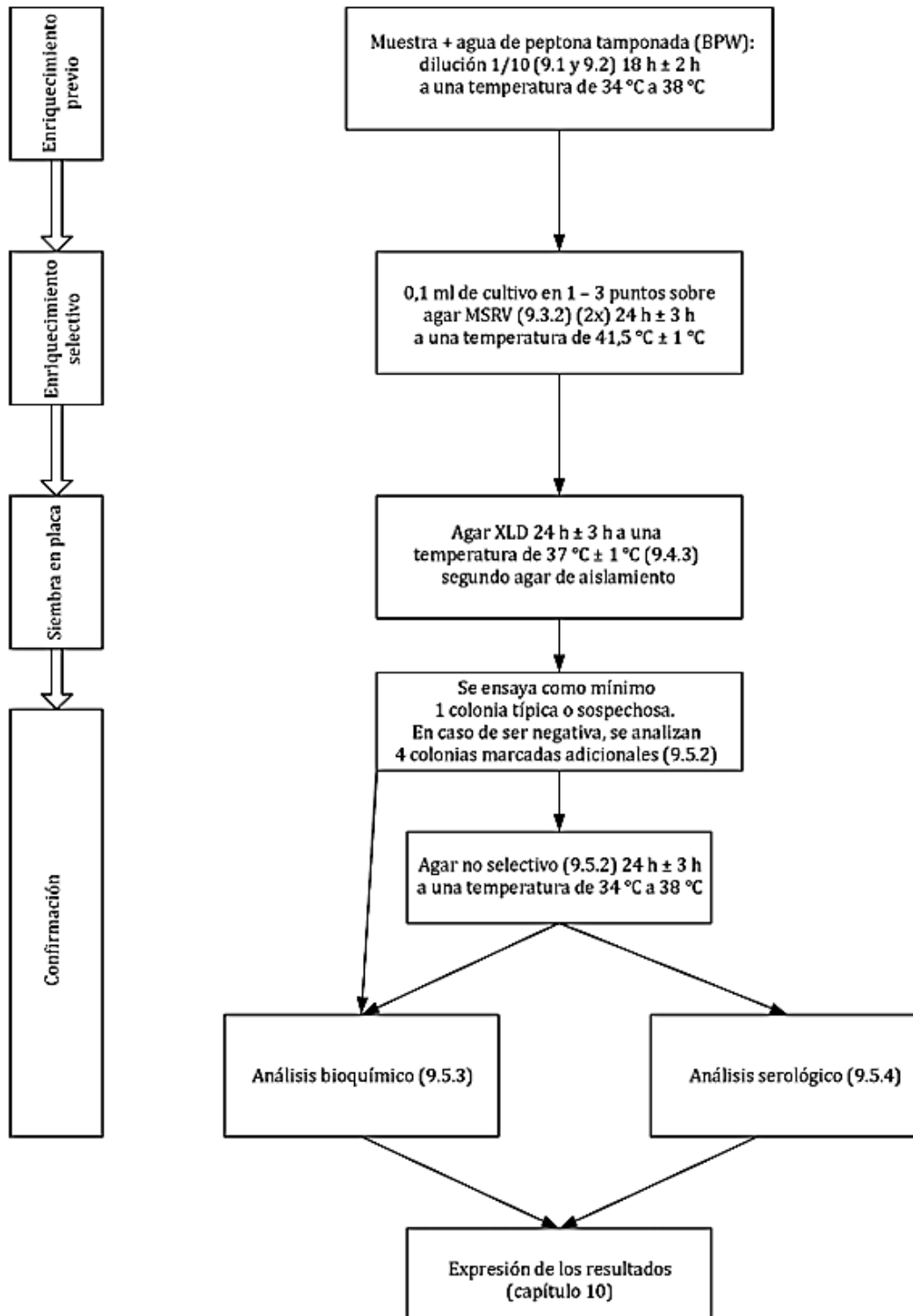
## ANEXOS

Anexo 1. Diagrama del procedimiento de detección de *Salmonella* en productos alimenticios para consumo humano y animal y en muestras ambientales procedentes del área de producción de alimentos.



Fuente: Norma Española UNE-EN ISO 6579-1:2017 para detección de *Salmonella* spp.

**Anexo 2. Diagrama del procedimiento de detección de *Salmonella spp.* en heces de animales y en muestras ambientales.**



Fuente: Norma Española UNE-EN ISO 6579-1:2017 para detección de *Salmonella spp.*

### Anexo 3. Acreditación de Laboratorio de ensayo en el INACAL

SISTEMAS DE INFORMACION EN LINEA


REPORTE DE METODOS POR EMPRESA

Empresa    
 Sede

● Reporte de métodos por empresa

● Reporte de productos por norma o tipo de ensayo

● Reporte de métodos por producto



**INACAL**  
Instituto Nacional de Calidad  
Acreditación

6	DETECCIÓN DE SALMONELLA SP.	UNE-EN ISO 6579-1:2017 / A1:2021	2017	<p>Microbiología de la cadena alimentaria. Método horizontal para la detección, enumeración y serotipado de Salmonella. Parte 1: Detección de Salmonella spp. Modificación 1: Ampliación del rango de temperaturas de incubación, modificación del estado del Anexo D y corrección de la composición de los medios MSRV y SC. (ISO 6579-1:2017/Amd 1:2020)</p>
				ALIMENTO PREPARADO CON O SIN TRATAMIENTO TÉRMICO CARNE Y PRODUCTOS CÁRNICOS CHOCOLATES DE LECHE, BLANCO PARA TAZA, DE COBERTURA CON O SIN RELLENO Y CHOCOLATE SUCEDÁNEO FIDEOS FIDEOS, PASTAS Y MASAS FRUTAS, HORTALIZAS Y FRUTOS SECOS HUEVOS Y OVOPRODUCTOS PAPA PRODUCTOS COCIDOS DE CONSUMO DIRECTO, COMO EXTRUIDOS, EXPANDIDOS, HOJUELAS INSTANTÁNEAS. PRODUCTOS COCIDOS DE RECONSTITUCIÓN INSTANTÁNEA COMO ENRIQUECIDOS LÁCTEOS, SUSTITUTOS LÁCTEOS, MEZCLAS FORTIFICADAS O NO, HARINAS EXTRUIDAS Y SUS MEZCLAS O NO, Y/O FORTIFICADAS O NO Y/O AZUCARADAS O NO. PRODUCTOS CRUDOS, DESHIDRATADOS Y/O PRECOCIDOS QUE REQUIEREN COCCIÓN COMO HOJUELAS, HARINAS Y SUS MEZCLAS O NO, Y/O FORTIFICADAS O NO Y/O AZUCARADAS O NO, SÉMOLAS, FÉCULAS Y ALMIDONES. PRODUCTOS PESQUEROS CRUDOS Y LISTOS PARA COCINAR PRODUCTOS PESQUEROS LISTOS PARA CONSUMO Y RECALENTAR QUESOS MADURADOS SÉMOLAS, FÉCULAS Y ALMIDONES

Fuente: <https://aplicaciones.inacal.gob.pe/crtacre/>

## Anexo 4. Microbiología de la cadena alimentaria – Validación de métodos – Parte 3: Protocolo para la verificación de métodos de referencia y métodos alternativos validados en un único laboratorio.

**ISO** Microbiology of the food chain - Method validation - Part 3: Protocol for the verification of reference methods and validated alternative methods in a single laboratory  
International Standard ISO 16140-3:2021

Cell colour coding: Enter values Calculated results Deviance  
NOTE: initially, this excel sheet shows data from the EXAMPLE in Clause 5, but these can be replaced by your own data

**5 Qualitative methods - Technical protocol for verification**  
Calculation and evaluation tool for verification of estimated LOD<sub>50</sub> (eLOD<sub>50</sub>) using Protocol 1 (ISO 16140-3, 5.5.1)

**5.4.2 Inoculation of the test portions**  
Determination of the inoculum level (based on appropriate enumeration of the high-level inoculum, or by MPN according to Annex C)

Implementation verification	(Food) item verification								
	(Food) item 1	(Food) item 2	(Food) item 3	(Food) item 4	(Food) item 5	(Food) item 6	(Food) item 7	(Food) item 8	(Food) item 9
Determined low inoculum level LIL (cfu/test portion):	2.0								

**5.5.1 Determination of eLOD<sub>50</sub> using protocol 1**  
Results per inoculum level [number of positive (food) item test portions per inoculum level: enter 0, 1, 2, 3 or 4 in each cell]

Inoculum level of the test portions	(Food) item 1	(Food) item 2	(Food) item 3	(Food) item 4	(Food) item 5	(Food) item 6	(Food) item 7	(Food) item 8	(Food) item 9
High inoculum	1								
Intermediate inoculum	4								
Low inoculum	2								
Blank (uninoculated)	0								

eLOD <sub>50</sub> (cfu/test portion)	= 0,7 x LIL	Enter results	Enter results	Enter results	Enter results	Enter results	Enter results	Enter results	Enter results
Determined eLOD <sub>50</sub> (cfu/test portion)	1.4	Enter results	Enter results	Enter results	Enter results	Enter results	Enter results	Enter results	Enter results

5.6	<b>Acceptability limits (protocol 1)</b>									
	The eLOD <sub>50</sub> shall not be > 4 x LOD <sub>50</sub> observed in the validation study									
	Published validation data of the method. If no validation data is available, assume an LOD <sub>50</sub> of 1 cfu/test portion									
	<b>Observed LOD<sub>50</sub> (cfu/test portion)</b>	1.2								
	Acceptable eLOD <sub>50</sub> (cfu/test portion) = 4 * LOD <sub>50</sub>	4.8	Enter data	Enter data	Enter data	Enter data	Enter data	Enter data	Enter data	Enter data
<b>Acceptability limit evaluation</b>										
<i>Determined eLOD<sub>50</sub> ≤ Acceptable eLOD<sub>50</sub></i>	Accepted	Not accepted	Not accepted	Not accepted	Not accepted	Not accepted	Not accepted	Not accepted	Not accepted	

Table 6 - Determination of eLOD<sub>50</sub> based on the number of positive results per level of contamination using protocol 1

High inoculation level <i>targeted 9 x LOD<sub>50</sub> / test portion</i>	Intermediate inoculation level <i>targeted 3 x LOD<sub>50</sub> / test portion</i>	Low inoculation level <i>targeted 1 x LOD<sub>50</sub> / test portion</i>	Blank level	eLOD <sub>50</sub> <i>cfu/test portion</i>
1/1	4/4	4/4	0/1	< 1,0 x LIL <sup>a</sup>
1/1	4/4	3/4	0/1	= 0,5 x LIL
1/1	4/4	2/4	0/1	= 0,7 x LIL
1/1	4/4	1/4	0/1	= 1,0 x LIL
1/1	4/4	0/4	0/1	= 1,5 x LIL
1/1	3/4	4/4	0/1	= 0,7 x LIL
1/1	3/4	3/4	0/1	= 1,0 x LIL
1/1	3/4	2/4	0/1	= 1,3 x LIL
1/1	3/4	1/4	0/1	= 1,7 x LIL
1/1	3/4	0/4	0/1	= 2,3 x LIL
1/1	2/4	4/4	0/1	= 1,1 x LIL
1/1	2/4	3/4	0/1	= 1,5 x LIL
1/1	2/4	2/4	0/1	= 1,9 x LIL
1/1	2/4	1/4	0/1	= 2,6 x LIL
1/1	2/4	0/4	0/1	= 3,7 x LIL
1/1	1/4	4/4	0/1	Unreliable MPN result <sup>b</sup>
1/1	1/4	3/4	0/1	= 2,1 x LIL
1/1	1/4	2/4	0/1	= 2,8 x LIL
1/1	1/4	1/4	0/1	= 4,0 x LIL
1/1	1/4	0/4	0/1	= 6,3 x LIL
1/1	0/4	4/4	0/1	Unreliable MPN result <sup>b</sup>
1/1	0/4	3/4	0/1	= 3,0 x LIL
1/1	0/4	2/4	0/1	= 4,3 x LIL
1/1	0/4	1/4	0/1	= 6,7 x LIL
1/1	0/4	0/4	0/1	= 14,0 x LIL

<sup>a</sup> LIL = Low inoculation level.  
<sup>b</sup> Unreliable MPN result: MPN combination is very unlikely to occur. Experiment shall be repeated



Cell colour coding: Enter values Calculated results Deviance

NOTE: initially, this excel sheet shows data from the EXAMPLE in Clause 5, but these can be replaced by your own data

## 5 Qualitative methods - Technical protocol for verification

Calculation and evaluation tool for verification of estimated LOD<sub>50</sub> (eLOD<sub>50</sub>) using Protocol 2 (ISO 16140-3, 5.5.2)

### 5.4.2 Inoculation of the test portions

Determination of the inoculum level (based on appropriate enumeration of the intermediate-level inoculum, or by MPN according to Annex C)

Implementation verification	(Food) item verification								
	(Food) item 1	(Food) item 2	(Food) item 3	(Food) item 4	(Food) item 5	(Food) item 6	(Food) item 7	(Food) item 8	(Food) item 9
Determined low inoculum level LIL (cfu/test portion):	2.0								

### 5.5.2 Determination of eLOD<sub>50</sub> using protocol 2

Results per inoculum level [frequency of positive duplicates per (food) item test portion and per inoculum level: enter or select 0, 1 or 2 in each cell]

Inoculum level of the test portions	(Food) item 1	(Food) item 2	(Food) item 3	(Food) item 4	(Food) item 5	(Food) item 6	(Food) item 7	(Food) item 8	(Food) item 9
High inoculum	not applied	not applied	not applied	not applied	not applied	not applied	not applied	not applied	not applied
Intermediate inoculum	3	3							
Low inoculum	1	1							
Blank (uninoculated)	0	1							
eLOD <sub>50</sub> (cfu/test portion)	= 1,4 x LIL	Positive blank	Enter results	Enter results	Enter results	Enter results	Enter results	Enter results	Enter results
Determined eLOD <sub>50</sub> (cfu/test portion)	2.8	Repeat test	Enter results	Enter results	Enter results	Enter results	Enter results	Enter results	Enter results

### 5.6 Acceptability limits (protocol 2)

The eLOD<sub>50</sub> shall not be > 4 x LOD<sub>50</sub> observed in the validation study

Published validation data of the method. If no validation data is available, assume an LOD<sub>50</sub> of 1 cfu/test portion

Observed LOD<sub>50</sub> (cfu/test portion) 2.5

Acceptable eLOD<sub>50</sub> (cfu/test portion) = 4 \* LOD<sub>50</sub> 10.0 Enter data Enter data Enter data Enter data Enter data Enter data Enter data Enter data

Acceptability limit evaluation

Determined eLOD<sub>50</sub> ≤ Acceptable eLOD<sub>50</sub> Accepted Not accepted Not accepted Not accepted Not accepted Not accepted Not accepted Not accepted Not accepted Not accepted

Table 8 - Determination of eLOD<sub>50</sub> based on the number of positive results per level of contamination using protocol 2

High inoculation level <i>not applied</i>	Intermediate inoculation level <i>targeted 3 x LOD<sub>50</sub> / test portion</i>	Low inoculation level <i>targeted 1 x LOD<sub>50</sub> / test portion</i>	Blank level	eLOD <sub>50</sub> <i>cfu/test portion</i>
	3/3	5/5	0/1	< 1,0 x LIL <sup>a</sup>
	3/3	4/5	0/1	= 0,4 x LIL
	3/3	3/5	0/1	= 0,7 x LIL
	3/3	2/5	0/1	= 1,0 x LIL
	3/3	1/5	0/1	= 1,4 x LIL
	3/3	0/5	0/1	= 2,0 x LIL
	2/3	5/5	0/1	= 0,7 x LIL
	2/3	4/5	0/1	= 0,9 x LIL
	2/3	3/5	0/1	= 1,2 x LIL
	2/3	2/5	0/1	= 1,6 x LIL
	2/3	1/5	0/1	= 2,3 x LIL
	2/3	0/5	0/1	= 3,7 x LIL
	1/3	5/5	0/1	Unreliable MPN result <sup>b</sup>
	1/3	4/5	0/1	= 1,4 x LIL
	1/3	3/5	0/1	= 1,8 x LIL
	1/3	2/5	0/1	= 2,6 x LIL
	1/3	1/5	0/1	= 4,1 x LIL
	1/3	0/5	0/1	= 8,6 x LIL
	0/3	5/5	0/1	Unreliable MPN result <sup>b</sup>
	0/3	4/5	0/1	Unreliable MPN result <sup>b</sup>
	0/3	3/5	0/1	= 2,9 x LIL
	0/3	2/5	0/1	= 4,5 x LIL
	0/3	1/5	0/1	= 9,4 x LIL

<sup>a</sup> LIL = Low inoculation level.

<sup>b</sup> Unreliable MPN result: MPN combination is very unlikely to occur. Experiment shall be repeated



Cell colour coding: Enter values Calculated results Deviance

NOTE: Initially, this excel sheet shows data from the EXAMPLE in Clause 5, but these can be replaced by your own data

**5 Qualitative methods - Technical protocol for verification**

Calculation and evaluation tool for verification using Protocol 3 (ISO 16140-3, 5.5.3).

**5.4.2 Inoculation of the test portions with 3 cfu to 5 cfu per test portion**

Determination of the inoculum level (based on appropriate enumeration of the inoculum, or by MPN according to Annex C)

Implementation verification	(Food) item verification							
(Food) item 1	(Food) item 2	(Food) item 3	(Food) item 4	(Food) item 5	(Food) item 6	(Food) item 7	(Food) item 8	(Food) item 9
Determined inoculum level (cfu/test portion):	4,0	1,7	5,0	5,4	4,0	4,0		
Inoculum > 5 Repeat experiment								

**5.5.3 Use of protocol 3**

Results [number of positive (food) item test portions: enter 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 in each cell]

	(Food) item 1	(Food) item 2	(Food) item 3	(Food) item 4	(Food) item 5	(Food) item 6	(Food) item 7	(Food) item 8	(Food) item 9
7 inoculated replicates	7	6	7	7	4	7			
Blank (uninoculated)	0	0	0	0	0	1			
Positive blank Repeat experiment									

**5.6 Acceptability limits (protocol 3)**

There shall be a minimum of six positive results out of the seven replicates tested

Acceptability limit evaluation

Positive results ≥ 6	Accepted	Accepted	Accepted	Not accepted	Not accepted	Not accepted	Not accepted	Not accepted	Not accepted
----------------------	----------	----------	----------	--------------	--------------	--------------	--------------	--------------	--------------

**Anexo 5. Formato de Verificación de equipos**

VERIFICACIÓN DE SETEO DE EQUIPOS								
EQUIPO			CODIGO					
AREA			LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA					
TEMPERATURA DE TRABAJO (T°C)								
SETEO DE EQUIPO (SET)								
FECHA	HORA	SET	OBSERVACIONES	HORA	SET	OBSERVACIONES	RESPONSABLE	CONFORMIDAD
SUPERVISADO POR			OBSERVACIONES GENERALES					
FIRMA			<p><b>CONFORME:</b> La lectura del seteo coincide con la calibración correspondiente  <b>NO CONFORME:</b> La lectura del seteo no coincide con la calibración correspondiente</p>					
NOMBRE								
CARGO	JEFE DE LABORATORIO							

Fuente: Formato obtenido de laboratorio en estudio

**VERIFICACIÓN DEL POTENCIOMETRO**

<b>CÓDIGO DE EQUIPO:</b>	<i>IL-065</i>	<b>MES / AÑO:</b>	
--------------------------	---------------	-------------------	--

pH: 4.00

Lote: 8963

MARCA: HANNA

pH: 7.00

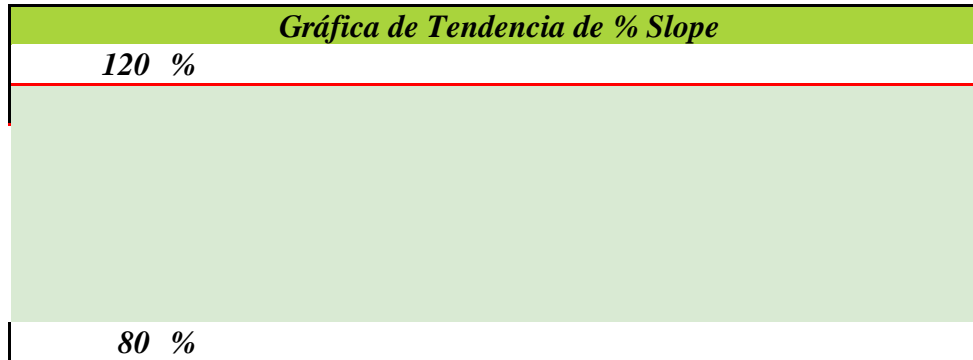
Lote: G24W04

MARCA: J.T BAKER

pH: 10.00

Lote: 9341

MARCA: HANNA



<b>DÍA</b>	<b>pH</b>			<b>Conformidad (*)</b>		<b>ANALISTA</b>	<b>OBSERVACIONES (SLOPE %)</b>
	<b>4.00</b>	<b>7.00</b>	<b>10.00</b>	<b>SI</b>	<b>NO</b>		
1	4.00	7.00	10.00	VERDADERO	FALSO	Tania Armas	92
2	4.00	7.00	10.00	VERDADERO	FALSO	Tania Armas	91
3	4.00	7.00	10.00	VERDADERO	FALSO	Tania Armas	92
4	4.00	7.00	10.00	VERDADERO	FALSO	Tania Armas	93
5	4.00	7.00	10.00	VERDADERO	FALSO	Tania Armas	91
6	4.00	7.00	10.00	VERDADERO	FALSO	Tania Armas	92

7	4.00	7.00	10.00	VERDADERO	FALSO	Tania Armas	93
8	4.00	7.00	10.00	VERDADERO	FALSO	Tania Armas	92
9	4.00	7.00	10.00	VERDADERO	FALSO	Tania Armas	91
10	4.00	7.00	10.00	VERDADERO	FALSO	Tania Armas	91
11	4.00	7.00	10.00	VERDADERO	FALSO	Tania Armas	92
12	4.00	7.00	10.00	VERDADERO	FALSO	Tania Armas	91
13	4.00	7.00	10.00	VERDADERO	FALSO	Tania Armas	92
14	4.00	7.00	10.00	VERDADERO	FALSO	Tania Armas	91
15	4.00	7.00	10.00	VERDADERO	FALSO	Tania Armas	92
16	4.00	7.00	10.00	VERDADERO	FALSO	Tania Armas	93
17	4.00	7.00	10.00	VERDADERO	FALSO	Tania Armas	92
18	4.00	7.00	10.00	VERDADERO	FALSO	Tania Armas	91
19	4.00	7.00	10.00	VERDADERO	FALSO	Tania Armas	93
20	4.00	7.00	10.00	VERDADERO	FALSO	Tania Armas	91

*(\*) La conformidad de la verificación se da cuando los valores de los patrones de referencia están dentro de los rangos definidos por el proveedor*

REVISADO: \_\_\_\_\_

Fuente: Formato obtenido de laboratorio en estudio



**Anexo 7. Programa de Calibración de equipos e instrumentos**

<b>EQUIPO</b>	<b>MARCA</b>	<b>PERIODO DE CALIB.</b>	<b>FECHA DE ÚLT. CALIB.</b>	<b>CALIBRADO POR:</b>	<b>PROCEDIMIENTO DE CALIBRACIÓN</b>	<b>PUNTOS DE CALIBRACIÓN</b>	<b>FECHA PROGR. DE CALIB.</b>
<b>INCUBADORA</b>	<b>ZENITHLAB</b>	2 años	2022-03-15	Sociedad de Asesoramiento Técnico S.A.C	PC-018, 2da Ed., "Procedimiento para la Calibración o Caracterización de medios isotermos con aire como medio termostático" INDECOPI-SNM	37 ± 1°C	marzo, 2024
						22 ± 2 °C	
<b>BAÑO TERMOSTÁTICO</b>	<b>GREEMED</b>	2 años	2021-07-31	Sociedad de Asesoramiento Técnico S.A.C	PC-019 1era. Ed., "Procedimiento para la Calibración de Baños Termostáticos" del INDECOPI-SNM.	41.5 ± 1°C	agosto, 2023
			2021-08-26	Sociedad de Asesoramiento Técnico S.A.C	"Procedimiento para la Calibración de Baños Termostáticos" del INDECOPI-SNM.	45°C ± 1°C	
<b>ESTUFA</b>	<b>3S CIENTIFICO</b>	2 años	2023-05-26	Sociedad de Asesoramiento Técnico S.A.C	La calibración se efectuó por comparación directa según el procedimiento PC-018, 2da Ed., "Procedimiento para la Calibración o Caracterización de medios isotermos con aire como	100 ± 2°C	mayo, 2025
						103 ± 2°C	
						110 ± 2°C	

					medio termostático", del INDECOPI-SNM.		
<b>AUTOCLAVE</b>	3S CIENTIFIC	2 años	2021-08-01	Sociedad de Asesoramiento Técnico S.A.C	PC-006, 2da Ed., "Procedimiento para la Calibración de autoclaves", del SNM-INDECOPI	115 ± 1°C 116 ± 1°C 121 ± 1°C	agosto, 2023
<b>BALANZA</b>	3S CIENTIFIC	3 años	2021-07-01	Analytical laboratory SAC	PC-001 "Procedimiento para la calibración de instrumentos de pesaje de funcionamiento no automático clase III y III". Primera Edición. 2019. INACAL	≤1000g CLASE III	julio, 2024
<b>PESA</b>	HAFNER	3 años	2021-12-05	Elicrom	Comparación directa con Masas Patrón e Instrumento de Pesaje (Sustitución Abba) CEM ME-025:2020	1 g	diciembre, 2024
<b>PESA</b>	HAFNER	3 años	2021-12-05	Elicrom	Comparación directa con Masas Patrón e Instrumento de Pesaje (Sustitución Abba) CEM ME-025:2020	50 g	diciembre, 2024
<b>PESA</b>	HAFNER	3 años	2021-12-05	Elicrom	Comparación directa con Masas Patrón e Instrumento de Pesaje (Sustitución Abba) CEM ME-025:2020	100 g	diciembre, 2024
<b>PESA</b>	HAFNER	3 años	2021-12-05	Elicrom	Comparación directa con Masas Patrón e Instrumento de Pesaje	200 g	diciembre, 2024

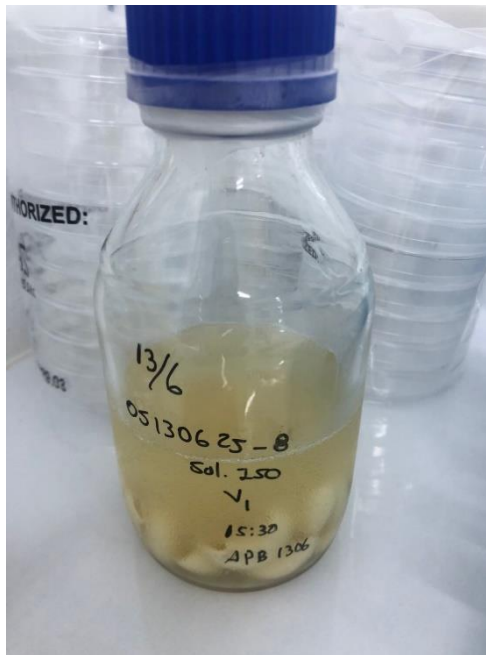
					(Sustitución Abba) CEM ME-025:2020		
<b>PESA</b>	HAFNER	3 años	2021-12-05	Elicrom	Comparación directa con Masas Patrón e Instrumento de Pesaje (Sustitución Abba) CEM ME-025:2020	200 g	diciembre, 2024
<b>REFRIGERADO RA</b>	BLACKLINE	2 años	2024-03-15	Sociedad de Asesoramiento Técnico S.A.C	PC-018, 2da Ed., "Procedimiento para la Calibración de medios isotermos con aire como medio termostático"	2-8°C	marzo, 2024
<b>CONGELADOR A</b>	BLACKLINE	2 años	2024-03-15	Sociedad de Asesoramiento Técnico S.A.C	PC-018, 2da Ed., "Procedimiento para la Calibración de medios isotermos con aire como medio termostático"	-20°C ± 5°C	marzo, 2026
<b>TERMOMETRO DIGITAL</b>	TRACEABLE	3 años	2022-11-30	Analytical laboratory SAC	La calibración se realizó por comparación directa siguiendo el PC-017 "Procedimiento para la Calibración de Termómetros Digitales". Segunda Edición. 2012. INDECOPI.	-25°C ,5 °C, -35°C	noviembre, 2025
<b>INCUBADORA</b>	3S CIENTIFIC	2 años	2024-03-22	Sociedad de Asesoramiento Técnico S.A.C	PC-018, 2da Ed., "Procedimiento para la Calibración o Caracterización de medios isotermos con aire como	30 ± 1°C - 36 ± 1°C 37 ± 1°C	marzo, 2026

<b>INCUBADORA</b>	3S CIENTIFIC	2 años	2022-09-02	Sociedad de Asesoramiento Técnico S.A.C	medio termostático” INDECOPI-SNM PC-018, 2da Ed., “Procedimiento para la Calibración o Caracterización de medios isotermos con aire como medio termostático” INDECOPI-SNM	35 ± 0,5°C	septiembre, 2024
<b>REFRIGERADORA</b>	KYNTEL	2 años	2024-03-15	Sociedad de Asesoramiento Técnico S.A.C	PC-018, 2da Ed., “Procedimiento para la Calibración de medios isotermos con aire como medio termostático”	5 ± 3°C	marzo, 2024
<b>BALANZA</b>	FAITHFUL	3 años	2022-10-12	Sociedad de Asesoramiento Técnico S.A.C	PC-011, 4ta Ed., "PROCEDIMIENTO DE CALIBRACIÓN DE BALANZAS DE FUNCIONAMIENTO NO AUTOMÁTICO. CLASE I y CLASE II", del INDECOPI-SNM.	≤200g CLASE II	octubre, 2025
<b>SENSOR DE TEMPERATURA PARA PH</b>	HORIBA	6 meses	2025-05-20	ELICROM	Comparación Directa Con Termómetro Patrón Y Baño Controlado De Temperatura	15°C, 20°C;25°C y 30°C	05/11/2025

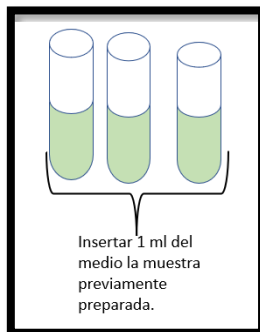
Anexo 8. Procedimiento realizado para la detección de *Salmonella*



## Procedimiento realizado para la detección de *Salmonella*

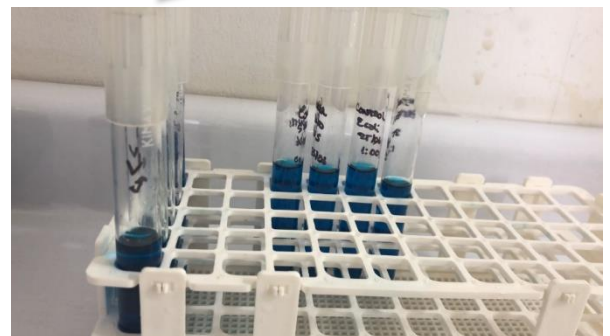


PRE-ENRIQUECIMIENTO en Caldo BPW (Agua Peptonada Tamponada). Incubar a 37 °C



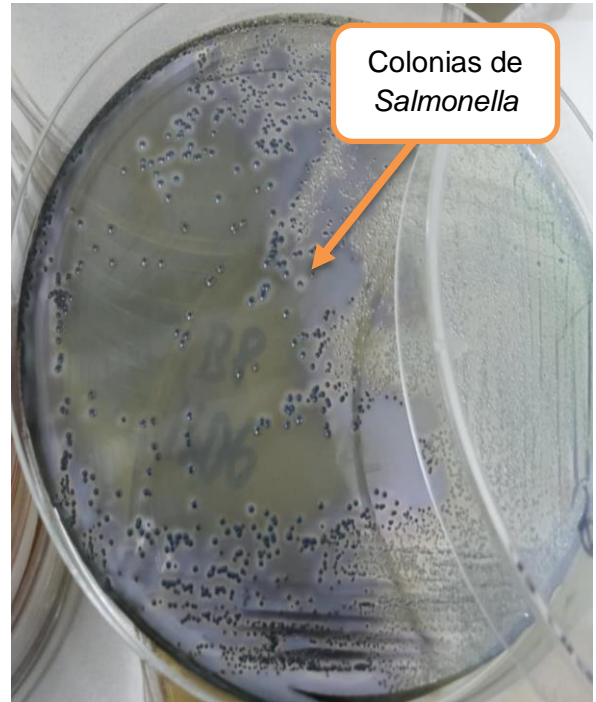
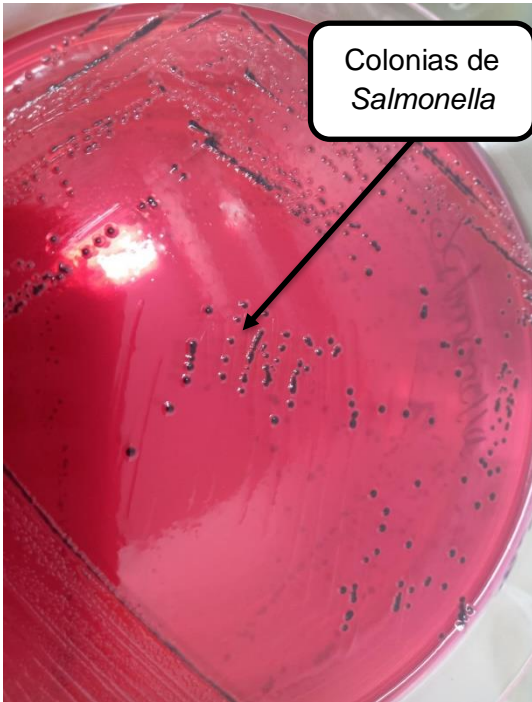
Fuente: Elaboración propia.

Agar Rappaport-Vassiliadis (MSRV). Incubar a 41,5°C ± 1°C durante 24 h ± 3 h



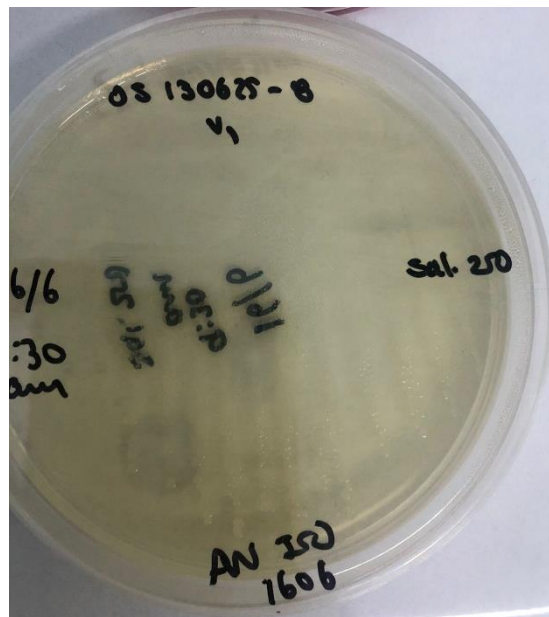
Medio de Enriquecimiento de Tetracionato Modificado de Muller-Kauffmann (MKTT). Incubar a 37°C ± 1°C durante 24 h ± 3 h

## SIEMBRA EN MEDIOS SELECTIVOS



XLD (Xilosa Lisina Desoxicolato).  
Incubar a  $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  durante 24 h

Sulfito bismuto (SB). Incubar a  $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$   
durante 48 h



Pasar a Agar  
Nutritivo

## PRUEBAS BIOQUÍMICAS Y SEROLÓGICAS CONFIRMATORIAS



TSI (Triple Sugar Iron)



LIA (Lysine Iron Agar)



Urea