

# Estudio molecular (PCR) para identificación de patógenos en productos cárnicos crudos de Ilobasco, El Salvador

Molecular analysis (PCR) for the identification of pathogens in raw meat products from Ilobasco, El Salvador

Walter Alexander Cosme<sup>1</sup> | Blanca Estela Saravía<sup>3</sup>  
Delmi Milagro Gracias<sup>2</sup> | Felipe Javier Alvarado<sup>4</sup>

Docentes investigadores, Escuela de Alimentos - Facultad Multidisciplinaria de Ilobasco, Cabañas

Fecha de recepción: 03-03-2025 Fecha de aceptación: 25-07-2025



## Resumen

La inocuidad alimentaria es la ausencia o aceptabilidad de cualquier riesgo para la salud del consumidor en relación con la ingesta de alimentos. Se debe garantizar la inocuidad en todas las fases del proceso de elaboración de alimentos, ya que las enfermedades transmitidas por estos no solo son causa de mortalidad, sino que también afectan el desarrollo económico. Esta investigación se centró en la aplicación de técnicas moleculares, como la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), para la identificación de patógenos en productos cárnicos crudos comercializados en el departamento de Cabañas, El Salvador. Se realizó la identificación de los lugares donde se elaboran productos cárnicos crudos, se tomaron muestras, se prepararon medios de cultivo, y se llevó a cabo el muestreo y enriquecimiento, así como la técnica PCR y el análisis de las muestras mediante cassettes para lectura. Los resultados revelaron condiciones de prácticas higiénicas generalmente aceptables para el consumidor en los lugares de elaboración y almacenamiento del producto. Este estudio contribuye significativamente a la identificación y mejora de las condiciones sanitarias en la cadena alimentaria, asegurando la calidad y seguridad de los productos consumidos diariamente por la población.

**Palabras clave:** PCR, embutidos, patógenos, *Salmonella* ssp, *Listeria* m.

## Abstract

Food safety is defined as the absence or acceptability of any risk to consumer health related to food consumption. Food safety must be ensured at all stages of the food production process, as foodborne diseases not only cause mortality but also impact economic development. This study focused on the application of molecular techniques, such as the Polymerase Chain Reaction (PCR), for the identification of pathogens in raw meat products marketed in the department of Cabañas, El Salvador. The study involved the identification of locations where raw meat products are prepared, sample collection, preparation of culture media, and the implementation of sampling and enrichment procedures, as well as PCR analysis using reading cassettes. The results revealed generally acceptable hygienic practices for consumers in the production and storage sites. This study significantly contributes to the identification and improvement of sanitary conditions in the food chain, ensuring the quality and safety of products consumed daily by the population.

**Keywords:** PCR, sausages, pathogens, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*.

1. Maestría en Asesoría Educativa, Ingeniero Agrónomo, Investigador-Docente; Autor para comunicación: email: walter.cosme@catolica.edu.sv ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1758-5722>
2. Master en Sistemas de Gestión de Calidad, Medio Ambiente y Prevención de Riesgos Laborales, Ingeniera en Tecnología y Procesamiento de Alimentos, Docente-Investigador. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9844-1765>
3. Master en Sistemas de Gestión de Calidad, Medio Ambiente y Prevención de Riesgos Laborales, Ingeniera Industrial, Docente-Investigador. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6647-8152>
4. Maestro en Asesoría Educativa, Docente-Investigador; email: felipe.alvarado@catolica.edu.sv, ORCID: 0000-0002-7735-3125

## 1. Introducción

*Listeria monocytogenes* es una bacteria Gram positiva, anaerobia facultativa, no esporulada y con flagelos, considerada una zoonosis. Este patógeno causa infecciones con evolución potencialmente fatal en pacientes con algún grado de compromiso inmune, pudiendo también afectar a adultos mayores de 65 años, niños menores de 1 año y mujeres en período de gestación.

Las infecciones agudas por *Salmonella* spp. pueden presentarse como fiebre tifoidea, gastroenteritis, bacteriemia o infección focal extraintestinal; se denomina invasiva aquella que traspasa la barrera intestinal y en la que se obtiene un aislamiento positivo de *Salmonella* en sitios estériles como sangre, líquido cefalorraquídeo o peritoneal, entre otros.

La cocción de los alimentos desempeña una función crucial al higienizarlos y eliminar la presencia de posibles patógenos (E&E Safe Food). Algunos alimentos crudos, como carne o verduras, pueden contener bacterias patógenas debido a la contaminación ambiental o al proceso de preparación. Cocinar estos alimentos a una temperatura interna de 75 °C durante 15 a 20 minutos se ha identificado como una medida eficaz para eliminar ciertas bacterias (Eroski Consumer).

Además de conferir a los alimentos características organolépticas, como color, sabor y textura, la cocción también cumple una función higienizadora. Para garantizar la calidad de los productos y servicios, es imperativo implementar sistemas que proporcionen indicadores de inocuidad de manera rápida. Por esta razón, la industria alimentaria utiliza una serie de análisis, entre ellos las pruebas realizadas mediante la técnica de la Reacción en

Cadena de la Polimerasa (PCR), para evaluar si el producto cumple con los parámetros requeridos antes de su comercialización.

En cuanto a los embutidos cárnicos crudos, se definen como aquellos que, después de su elaboración y antes del empaquetado, no reciben ningún tratamiento térmico, pudiendo ser ahumados o no. Las características generales de los ingredientes y aditivos alimentarios, especialmente la carne, deben cumplir con estándares estrictos. La carne utilizada en la elaboración de embutidos debe provenir de animales sanos, sacrificados en mataderos autorizados y sometidos a inspecciones pre y post mortem. La carne destinada a embutidos deberá ser magra, sin exceso de grasa, libre de huesos, cartílagos, tendones, conductos sanguíneos mayores, coágulos de sangre, pelos y cerdas, y no presentar sabor u olor extraño, decoloraciones ni deterioros, estando apta para el consumo humano desde todos los puntos de vista.

**Grasa de cerdo:** Debe cumplir con los estándares de limpieza y salud, y estar libre de rancidez.

**Características generales de las envolturas:** Para la elaboración de embutidos, se deben utilizar intestinos de cerdo rigurosamente limpios y en buen estado de salud. Como alternativa, se pueden emplear envolturas artificiales, comestibles o no, siempre y cuando estén autorizadas por el organismo competente del país.

**PCR:** La Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) es una técnica de diagnóstico molecular ampliamente utilizada debido a su rapidez y facilidad de uso. Por lo general, se requieren de 2 a 3 horas para completar una PCR.

Durante el análisis por PCR se realizan una serie de etapas que deben ser supervisadas constantemente para confirmar la veracidad de los resultados. Se inicia con la extracción del ADN mediante la incubación ( $\pm 24$  horas) de la muestra en un caldo específico para el patógeno que se busca —en nuestro caso, un caldo para la identificación de *Salmonella* y otro para *Listeria*—. Este proceso garantiza la precisión y eficacia del diagnóstico molecular, contribuyendo a la detección temprana de posibles patógenos en productos alimentarios.

- Preparación de la muestra
- Amplificación
- Desnaturalización inicial
- Ciclos del PCR (Desnaturalización, alineamiento y extracción final)
- Extensión final
- Electroforesis

## 2. Materiales y Métodos

La investigación se desarrolló en el Centro Regional de la Universidad Católica de El Salvador en Ilobasco, Cabañas. Especifica-

mente, se llevaron a cabo en el laboratorio de investigación y en el laboratorio de microbiología de la Escuela de Alimentos del Técnico en Lácteos y Cárnicos. Durante el período de enero a diciembre se seleccionaron muestras al azar de diversas carnicerías artesanales ubicadas en el mercado municipal de Ilobasco.

El objetivo del estudio fue analizar productos cárnicos crudos elaborados de manera artesanal, comercializados en el mercado central de Ilobasco, para evaluar las condiciones y prácticas higiénicas implementadas durante su procesamiento, manejo y distribución. En los análisis realizados mediante la técnica de PCR se buscó identificar patógenos como *Listeria monocytogenes* y *Salmonella* spp., ambos de alta peligrosidad para la población. El propósito fue determinar la ausencia o presencia de estos patógenos, contribuyendo así al cumplimiento de las buenas prácticas de manipulación durante la elaboración de productos cárnicos crudos.

Los análisis se llevaron a cabo en el laboratorio de microbiología, utilizando diversos equipos y medios de cultivo requeridos por la metodología de análisis establecida.

**Tabla 1**

*Materiales y equipos utilizados para la realización de los análisis mediante la prueba del PCR*

Equipos	Reactivos	Cristalería utilizada
- Autoclave	- Caldo de enriquecimiento para salmonella spp.	- Beaker
- Termociclador	- Caldo de enriquecimiento de listeria monocytogenes.	- Erlenmeyer
- Balanza		- Espátula
- Incubadora		- Pipetas
- Cámara de flujo laminar		- Probeta
- Refrigeradora		
- Micro Pipetas: 500 $\mu$ l, 200 $\mu$ l, 50 $\mu$ l.		
- Baño maría en seco o llamado también bloque de calentamiento.		

**Procedimiento para análisis:**

1. Preparación de medios de cultivo y cristalería.
2. Esterilización de cristalería y medios de cultivo en auto clave: 121°C por 15 minutos.
3. Muestreo y enriquecimiento para 225ml de caldo enriquecedor.
4. Pese 25 gramos de muestra cárnica en una bolsa estéril de 92onz.
5. Transfiera 225 ml de caldo a la bolsa que contienen la muestra.
6. Coloque la bolsa en la incubadora a  $\pm 35^{\circ}\text{C}$ , entre 18-24 horas.

**Preparación de la muestra y PCR**

1. Coloque tubos de muestreo de 1,5 ml en el rack.
2. Retire la bolsa de la incubadora y agite para suspender cualquier sedimentación.
3. Pipetear 500 $\mu\text{l}$  de cultivo enriquecido y transferir a tubo de muestreo de 1,5 ml, sellar e invertir para mezclar el contenido, evitando la formación de burbujas.
4. Hervir el tubo de 1,5 ml con muestra en bloque de calentamiento durante  $10 \pm 1$  minutos y deje enfriar durante al menos 10 minutos a temperatura ambiente (20-25 °C).

5. Transfiere 50 $\mu\text{l}$  de líquido de la muestra enfriada del paso 4 anterior al tubo de reactivo de PCR descongelado.
  - a. Nota: para cada muestra (descongele el tubo de PCR durante  $10 \pm 1$  minutos a temperatura ambiente 20-25° C.
  - a. Nota: abra el tubo de PCR solo cuando agregue la muestra y luego cierre de inmediato para evitar la contaminación cruzada entre los tubos.
6. Transfiera el tubo de PCR de la muestra al termociclador y ejecute el programa VFLOWSS, por un tiempo de 1:30 minutos.

**Análisis de muestras en cassette y obtención de resultados**

1. Retire los tubos del termociclador y agregue 4 gotas de BUFFER directamente a cada tubo de PCR.
2. Transfiera con pipeta el contenido completo (200 $\mu\text{l}$ ) del tubo de PCR directamente a la ventana de muestra del casete del Ensayo Veriflow. Se debe usar un casete de Ensayo Veriflow separado para cada tubo de PCR.
3. Permita que la prueba se desarrolle durante 2 minutos  $\pm 15$  segundos.

4. Agregue 4 gotas de BUFFER B directamente a cada ventana del cassette.
5. Permita que la prueba se desarrolle durante 1 minuto  $\pm$  15 segundos.
6. Accionar el switch e inmediatamente registre los resultados.
  - a. La aparición de una línea roja (control) en la ventana del casete indica un resultado negativo
  - b. La aparición de dos líneas rojas (control y prueba) en la ventana del cassette indica un resultado positivo.
  - c. Si la línea de control no se desarrolla, la prueba no es válida y deberá repetirse.

### Presencia

## 3. Resultados y Discusión

Durante el proceso de análisis para la detección de *Salmonella* spp y *Listeria monocytogenes* mediante la técnica de PCR en los productos cárnicos crudos comercializados en el mercado central de Ilobasco, Cabañas, El Salvador. Se pudo verificar que no presentaban la presencia de estos microorganismos patógenos.

**Tabla 2**

*Resultados detección molecular Salmonella spp. & Listeria monocytogenes*

Mes	Salmonella spp		Listeria monocytogenes	
	Ausencia	Presencia	Ausencia	Presencia
Enero	3	1	4	0
Febrero	6	0	6	0
Marzo	8	0	8	0
Abril	6	0	6	0
Mayo	5	1	6	0
Junio	4	0	4	0
Julio	5	0	5	0
Agosto	7	0	7	0
Septiembre	6	0	6	0
Octubre	7	0	7	0
Noviembre	8	0	8	0

Los resultados obtenidos durante la ejecución de los análisis revelaron que ninguna de las muestras analizadas mostró presencia de los patógenos buscados. Este hallazgo demuestra que los productos cárnicos son aptos y recomendables para su consumo.

#### 4. Conclusiones

El análisis molecular mediante la técnica de PCR en productos cárnicos crudos elaborados artesanalmente en el municipio de Ilo-basco, Cabañas, es esencial para comprender las condiciones de higiene y manipulación posteriores a la elaboración. Se deben considerar diversos aspectos que podrían actuar como potenciales fuentes de contaminación del producto.

Los resultados obtenidos tras la realización de cada análisis revelaron que ninguna de las muestras analizadas mostró la presencia de los microorganismos patógenos estudiados. Este hallazgo indica un nivel satisfactorio de seguridad en los productos cárnicos crudos elaborados en la zona.

Es relevante destacar que la población de Ilo-basco consume estos productos cárnicos crudos en diversas formas, sometidos a procesos de cocción a temperaturas que oscilan entre 75-80 °C, durante períodos de tiempo variables (10 a 20 minutos) antes de su consumo. Este procedimiento contribuye a eliminar buena cantidad de patógenos no buscados en este estudio que podrían estar presente en los alimentos, garantizando así la inocuidad de los mismos para la salud de los consumidores.

#### 5. Referencias

- 3M (2011). Manual de usuario del sistema de detección molecular 3M MDS100.
- Antón, C. L. (2003). *Preparación Higiénica de los Alimentos*. Trillas.
- Hayes, S. F. (2012). *Higiene de los Alimentos, Microbiología y HACCP* (2 ed.). Zaragoza, España: Acribia.
- Ingraham, J. y. (1998). *Introducción a la Microbiología*. España: Reverte.
- Kunz, B. (1998). *Cultivo de Microorganismos para la Producción de Alimentos, Obtención, Aplicaciones e Investigación*. Zaragoza, España: Acribia S.A.
- Lorenzo, L. C. (2008). *Auditoría del Sistema APPCC*. Madrid - Buenos Aires: Díaz de Santos.
- Madigan, M. (2003). *Biología de los Microorganismos*. España: Pearson-Prentice-Hall.
- Ministerio de Salud de El Salvador. (s.f.). *Norma Técnica de Alimentos* - Diario Oficial Tomo 398.

Moreno, B. (2006). *Higiene e inspección de carnes*. Madrid: Díaz de Santos.

Norma Nso 67.02.13:98 salvadoreña. (n.d.). <https://www.defensoria.gob.sv/images/stories/vari-rios/NORMAS/EMBUTIDOS/nso67.02.13.98%20EMBUTIDOS.pdf>

W.C., F. (1993). *Microbiología de Alimentos*. España: Acribia S.A.