



UNIVERSIDAD PARA LA COOPERACIÓN INTERNACIONAL

**MAESTRÍA EN GERENCIA DE PROGRAMAS SANITARIOS
EN INOCUIDAD DE ALIMENTOS**

**ELABORACIÓN DE UN MANUAL DE PROCEDIMIENTO DE LABORATORIO
DE MICROBIOLOGÍA DE ALIMENTOS PARA LA DETECCIÓN DE
ESCHERICHIA COLI PRODUCTORA DE TOXINA SHIGA EN PRODUCTOS
CÁRNICOS IMPORTADOS A LA REPÚBLICA DE PANAMÁ**

SARA MERCEDES AHUMADA RUIZ

**PROYECTO FINAL DE GRADUACIÓN PRESENTADO COMO REQUISITO
PARCIAL PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE MASTER EN GERENCIA DE
PROGRAMAS SANITARIOS EN INOCUIDAD DE ALIMENTOS**

San José, Costa Rica

Marzo, 2018

**UNIVERSIDAD PARA LA COOPERACIÓN INTERNACIONAL
(UCI)**

Este Proyecto Final de Graduación fue aprobado por la Universidad como requisito parcial para optar al grado de Máster en Gerencia de Programas Sanitarios en Inocuidad de Alimentos

**Prof. Ana Cecilia Segreda Rodríguez
PROFESORA TUTORA**

**Prof. Giannina Lavagni
LECTORA**

**SARA MERCEDES AHUMADA RUIZ
SUSTENTANTE**

DEDICATORIA

A Dios Padre Celestial por su infinito amor, por ser mi guía, mi luz y permitirme culminar otra meta profesional.

A mi princesa Sara Alexandra, gracias mi corazón por llenarme de tu amor y energía, eres lo más preciado en mi vida. A mi madre Zoraida por sus consejos y a mi esposo Alex por animarme.

A mis hermanos Michelle y Mario por su cariño.

A mi morita bella.

Gracias familia por siempre estar presente en mi vida, los amo.

AGRADECIMIENTOS

A la Autoridad Panameña de Seguridad de Alimentos (AUPSA) por brindarme la oportunidad de participar y formarme en esta Maestría Profesional en Inocuidad de Alimentos. A la Ing. María Tejada por su colaboración y por animarnos a culminar.

A mi tutora de tesis la Prof. Ana Cecilia Segreda por su experiencia y consejos, a mi lectora la Prof. Giannina Lavagni por la revisión de la tesis y recomendaciones, a todos los profesores que nos transmitieron sus conocimientos y nos apoyaron.

A mis compañeras Gilenia, Anellys y Marla, por su apoyo y ánimos para lograr esta meta conjunta y no decaer en el intento.

A mis compañeros de AUPSA de la maestría por todos los momentos que compartimos a través de esta meta.

A mi hermoso Panamá, ese pequeño país maravilloso donde hay mucho por hacer, investigar y cambiar.

TABLA DE CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN	3
1.1 Antecedentes	3
1.2 Problemática	4
1.3 Justificación del Problema.....	7
1.4 Objetivo General	8
1.5 Objetivos Específicos.....	8
2. MARCO TEÓRICO	9
2.1 Organismos Internacionales de Control de Alimentos	9
2.1.1 <i>Codex Alimentarius</i>	9
2.1.2 <i>Organización Mundial de Sanidad Animal</i>	11
2.1.3 <i>Convención Internacional de Protección Fitosanitaria</i>	12
2.2 Inocuidad de los Alimentos	13
2.3 Análisis de Riesgos.....	14
2.3.4 <i>Peligros Presentes en los Alimentos</i>	16
2.3.5 <i>Criterios Microbiológicos</i>	18
2.4 Enfermedades Transmitidas por los Alimentos	19
2.5 Situación de Panamá.....	22
2.6 Marco Institucional	24
2.6.1 <i>Visión y Misión</i>	25
2.6.2 <i>Direcciones Técnicas</i>	25
2.7 ORGANIGRAMA	27
2.8 Requisitos Para Elegibilidad y Aprobación de País	28
2.9 Muestreo	30
2.9.1 <i>Sistema de Notificación de Importación</i>	31
2.9.2 <i>Toma de Muestra</i>	32
2.9.3 <i>Emisión de Resultados</i>	34
2.10 Microorganismos Presentes en Alimentos	35
2.10.1 <i>Escherichia coli</i>	36
2.10.2 <i>Grupos Filogenéticos de Escherichia coli</i>	38
2.10.4 <i>E. coli Enteropatógena (ECEP)</i>	41
2.10.5 <i>E. coli Enterohemorrágica (ECEH)</i>	43
2.10.6 <i>E. coli Enterotoxigénica (ECET)</i>	44
2.10.7 <i>E. coli Enteroinvasiva (ECEI)</i>	46
2.10.8 <i>E. coli Enteroagregativa (ECEA)</i>	47
2.10.9 <i>E. coli Adherente Difusa (ECAD)</i>	48
2.11 Resistencia Antimicrobiana.....	49
2.12 Nuevas Metodologías Para la Detección de Microorganismos Patógenos.....	51
3. MARCO METOLÓGICO	58
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	64
5. CONCLUSIONES	77
6. RECOMENDACIONES	79
7. BIBLIOGRAFÍA	80

8. ANEXOS	86
Anexo 1: ACTA DEL PROYECTO FINAL DE GRADUACIÓN.....	86
Anexo 2: Formato de Acta de Toma de Muestra de Alimentos Importados.	89
Anexo 3: Formato de Orden de Análisis de Alimentos Importados.....	90
Anexo 4: Formato de Certificado de Análisis No Conforme.....	91
Anexo 5: Formato de Certificado de Análisis Conforme.	92
Anexo 6: flujograma de laboratorio (usda/fsis) para la detección, aislamiento e identificación de <i>escherichia coli</i>	93
Anexo 7: Consolidado de Normativas Nacionales e Internacionales para Productos Cárnicos.....	94
Parámetros de Análisis para Productos Cárnicos:.....	94
<i>Carne de aves cruda</i>	94
<i>Carne de pavo</i>	96
<i>Productos procesados de aves</i>	96
<i>Carne de bovinos cruda</i>	96
<i>Carne de bovino separada mecánicamente y carne molida</i>	98
<i>Carne de porcinos cruda</i>	99
<i>Embutidos cocidos (aves, porcinos, bovinos, etc.)</i>	100
<i>Embutidos crudos (aves, porcinos, bovinos, etc.)</i>	101
<i>Salchichas (aves, porcinos, bovinos, etc.)</i>	101
<i>Carne Luncheon</i>	101
<i>Carne Corned Beef</i>	102
<i>Carne Picada Curada Cocida</i>	102
<i>Carnes deshidratadas y productos de origen animal deshidratados (sangre, plasma o gelatina deshidratados, charqui, jerky)</i>	102
<i>Despojos crudos congelados</i>	103
<i>Colágeno</i>	103
<i>Gelatinas comestibles</i>	103
<i>Jamones (cerdo u otras especies)</i>	103
<i>Jamón Curado Cocido</i>	105
<i>Espaldilla de Cerdo Curada Cocida</i>	105
<i>Carne de caballo</i>	105
<i>Carne de conejo</i>	105
<i>Carne de cabra</i>	105
<i>Carne de ciervo / venado</i>	105
<i>Carne de oveja</i>	105
Anexo 8: Cronograma de Actividades para Proyecto Final de Graduación.....	108

INDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. ESTRUCTURA ORGANIZATIVA DE LA AUTORIDAD PANAMEÑA DE SEGURIDAD DE ALIMENTOS.	27
FIGURA 2. MICROFOTOGRAFÍA ELECTRÓNICA DE LA BACTERIA ESCHERICHIA COLI.	37
FIGURA 3. ESQUEMA PATOGENICO DE ESCHERICHIA COLI DIARRENOGÉNICAS.	40
FIGURA 4. FLUJOGRAMA DE PROCEDIMIENTO PARA TOMA Y ENVÍO DE MUESTRA AL LABORATORIO.....	60
FIGURA 5. FLUJOGRAMA DE PROCEDIMIENTO PARA DETECCIÓN MOLECULAR DE E. COLI STEC.....	63
FIGURA 6. TOTAL DE MUESTRAS Y ANÁLISIS REALIZADOS A LOS ALIMENTOS IMPORTADOS A PANAMÁ DEL AÑO 2014 A 2017.	67
FIGURA 7. PORCENTAJE TOTAL DE RESULTADOS DE ANÁLISIS DE LABORATORIO EN BASE A SU EVALUACIÓN DE CONFORMIDAD.	68
FIGURA 8. EVALUACIÓN DE LA CONFORMIDAD DE LOS RESULTADOS DE ANÁLISIS REALIZADOS DE 2014 A 2017.	69
FIGURA 9. DATOS DE LA IMPORTACIÓN ANUAL DE CARNE FRESCA Y CONGELADA CORRESPONDIENTE A LOS AÑOS 2015 A 2017.	70
FIGURA 10. PRINCIPALES PAÍSES QUE IMPORTAN CARNE A PANAMÁ EN EL AÑO 2015. ...	71
FIGURA 11. PRINCIPALES PAÍSES QUE IMPORTAN CARNE A PANAMÁ EN EL AÑO 2016. ...	72
FIGURA 12. PRINCIPALES PAÍSES QUE IMPORTAN CARNE A PANAMÁ EN EL AÑO 2017. ...	73

INDICE DE TABLAS

TABLA 1. PAÍSES APROBADOS PARA IMPORTAR PRODUCTOS CÁRNICOS A PANAMÁ.....	29
TABLA 2. CARACTERÍSTICAS DE LOS GRUPOS DE ESCHERICHIA COLI CAUSANTES DE DIARREA.	40

ABREVIATURAS

AUPSA: Autoridad Panameña de Seguridad de Alimentos

DINACAI: Dirección Nacional de Análisis y Control de Alimentos Importados

DINAVE: Dirección Nacional de Verificación

DINAN: Dirección Nacional de Normas

OMS: Organización Mundial de la Salud

OMC: Organización Mundial de Comercio

FAO: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura

FDA: Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos

ETA: enfermedades de transmisión alimentaria

SISNIA: Sistema de Notificación de Importación

STEC: Escherichia coli productora de toxina Shiga

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa

RESUMEN EJECUTIVO

La Autoridad Panameña de Seguridad de Alimentos (AUPSA) es la entidad del Estado Panameño responsable de garantizar la inocuidad y calidad de los productos importados para consumo humano y animal, bajo criterios científicos y técnicos. La AUPSA cuenta con un Laboratorio de Análisis de Alimentos que constituye el primer laboratorio del estado exclusivo para alimentos y aguas en Panamá, que permitirá fortalecer la vigilancia de los alimentos importados para la detección de peligros biológicos, químicos y físicos, que puedan poner en riesgo la salud pública de la población y el patrimonio agropecuario del país. Este laboratorio permitirá ampliar la capacidad diagnóstica con que actualmente se cuenta tanto para matrices de alimentos, metodologías utilizadas, y tiempo de respuesta. Importante para resultados No Conformes o por alertas sanitarias alimentarias, porque permitirá agilizar la toma de decisiones y medidas precautorias y/o correctivas que reducirán el riesgo de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) en la población. Actualmente, la AUPSA realiza los análisis para la detección de microorganismos patógenos, en laboratorios estatales externos que no solo trabajan en alimentos, sino también en diagnóstico clínico y farmacológico. Estos laboratorios tienen una limitada capacidad de diagnóstico, metodologías, matrices de alimentos que analizan y poco espacio físico. Lo que afecta el cumplimiento de la institución con respecto a la vigilancia de los alimentos importados, que en los últimos años se ha incrementado, especialmente para el caso de productos cárnicos de origen bovino, porcino y aviar, que para ingresar a Panamá deben cumplir con los requisitos de elegibilidad de país, aprobación de plantas y documentación exigida por AUPSA.

En esta investigación de trabajo final de graduación se propone el Desarrollo de un Manual de Procedimiento en Microbiología de Alimentos para la Detección Molecular por PCR en Tiempo Real de *Escherichia coli* productora de toxina shiga O157:H7 y no O157 (O26, O11, O12, O45, O111, O145) en productos cárnicos de origen bovino, porcino y aviar importados a Panamá, para verificar que los países importadores cumplen con todas las normativas nacionales e internacionales exigidas por el país. El desarrollo de esta metodología permitirá determinar la incidencia de este patógeno en productos de alto riesgo, permitiendo la toma de decisiones a nivel gerencial para el retiro o destrucción de los mismos.

Las ETA constituyen en la actualidad un importante problema de salud pública, debido al incremento de la emergencia y re-emergencia de patógenos transmitidos por alimentos, el uso indiscriminado de medicamentos veterinarios, o por eventos adversos no planeados por el hombre. La bacteria *Escherichia coli* productora de toxina Shiga (STEC), es un patógeno emergente asociado a casos de diarrea, colitis hemorrágica, y síndrome urémico hemolítico en los seres humanos. Se ha asociado directamente con ETA por el consumo de carnes, frutas y vegetales contaminados, carnes mal cocidas, leches y jugos no pasteurizados, entre otros.

Es fundamental la vigilancia epidemiológica que permita garantizar la inocuidad y calidad de los alimentos importados especialmente de productos de alto riesgo, con el objetivo de prevenir enfermedades transmitidas por los alimentos en la población.

Las muestras de productos cárnicos de origen bovino, porcino y aviar se procesaron utilizando el manual de procesamiento de muestras y pre-enriquecimiento del Departamento de Agricultura y Servicios de Inspección e Inocuidad de Alimentos de los Estados Unidos (USDA/FSIS), para luego proceder con la detección molecular mediante una amplificación por PCR en Tiempo Real de *Escherichia coli* productora de toxina shiga O157:H7 y no O157 (O26, O11, O12, O45, O111, O145), utilizando cebadores específicos para los genes (*Stx1*, *Stx2* y *eae*), las muestras con resultado positivo se confirmaron con medios diferenciales para el aislamiento y confirmación de *Escherichia coli*. También, se realizó inmunoaglutinación en latex para los antígenos somáticos y flagelares de este patógeno.

La AUPSA del 2014 al 2017 ha realizado 95,164 análisis y asignado muestreo a 69,164 muestras, de las cuales el 97.71% corresponden a resultados Conformes y 2.28% a No Conformes. Los resultados No conformes corresponden a análisis microbiológicos, químicos y entomológicos. El principal resultado microbiológico No Conforme corresponde a la detección de *Escherichia coli* en productos cárnicos y vegetales frescos. Estos resultados son preocupantes, debido al incremento de importación de este tipo de productos de alto riesgo al país y su relación con alertas sanitarias de origen alimentario. Los principales países que importan carnes son Nicaragua, Estados Unidos y Canadá, de los cuáles hemos detectado resultados no satisfactorios por este patógeno.

Los métodos moleculares como la PCR en Tiempo Real son sensibles y específicos para la detección de microorganismos patógenos transmitidos por alimentos como *Escherichia coli* productora de toxina Shiga, disminuyen el tiempo de respuesta para diferenciar entre resultados Conformes y No Conformes, impactando positivamente en la toma de decisiones ante eventos de importancia en salud pública. El desarrollo de un Manual de Procedimientos en Microbiología de Alimentos para la detección de microorganismos patógenos, garantiza resultados analíticos fiables y de alta calidad, por lo que se recomienda su implementación para la detección de otros microorganismos patógenos de importancia en alimentos.

Palabras clave: *Escherichia coli*, STEC O157, STEC no O-157, detección molecular, alimentos importados, Panamá.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 ANTECEDENTES

La Autoridad Panameña de Seguridad de Alimentos (AUPSA), es la entidad rectora del Estado Panameño según Decreto Ley N° 11 del 22 de febrero de 2006, responsable de asegurar el cumplimiento y la aplicación de las leyes y reglamentos nacionales e internacionales en materia de inocuidad y calidad de alimentos importados al territorio nacional para consumo humano y animal, bajo criterios estrictamente científicos y técnicos (Autoridad Panameña de Seguridad de Alimentos, 2006).

Una de las tres Direcciones Técnicas de AUPSA es la Dirección Nacional de Análisis y Control de Alimentos Importados (DINACAI), que entre sus funciones debe ordenar realizar muestreos y análisis de laboratorio (microbiológicos, físico-químicos, entomológicos, nematológicos, residuos tóxicos, plaguicidas, micotoxinas, entre otros), para asegurar la inocuidad y calidad de los mismos (Autoridad Panameña de Seguridad de Alimentos, 2006).

DINACAI cuenta con un Plan Nacional de Vigilancia y Monitoreo de los Alimentos Importados, el cual ha sido diseñado en base a una evaluación de riesgo de los alimentos, posibles peligros biológicos, químicos y físicos, partidas arancelarias, población de riesgo (consumidores), criterios microbiológicos, límites máximos residuales permitidos, y las normativas, reglamentaciones y leyes nacionales e internacionales vigentes. El objetivo de este programa es monitorear y verificar la inocuidad y calidad de los alimentos que se importan al país, para proteger la salud pública y el patrimonio agropecuario del país. Además, de establecer medidas precautorias en caso de alertas o emergencias sanitarias que permitan

salvaguardar los intereses del país, basado en criterios científico técnicos (Autoridad Panameña de Seguridad de Alimentos, 2006).

La AUPSA cuenta con un Laboratorio de Análisis de Alimentos ubicado en el Parque Tecnológico de Ciudad del Saber, Clayton, Ciudad de Panamá. Este Laboratorio Estatal constituye el primer laboratorio exclusivo para análisis de alimentos y aguas en Panamá, que permitirá concentrar los recursos tanto económicos como de personal científico técnico en un solo laboratorio. Fortalecerá la capacidad de monitoreo y vigilancia de alimentos importados para la detección de contaminantes o peligros biológicos, químicos y físicos, que pongan en riesgo la salud pública de la población al afectar la inocuidad y calidad de los alimentos. Permitirá ampliar la capacidad de detección (Diagnóstico) de matrices de alimentos analizados, y estandarización e implementación de nuevas técnicas. También, la reducción del tiempo de emisión de resultados. Importante para Análisis No Conformes, porque permitirá tomar las medidas correctivas a tiempo, disminuyendo el riesgo de enfermedades transmitidas por alimentos y permitiendo garantizar la inocuidad de los alimentos importados que consume la población del país.

1.2 PROBLEMÁTICA

Actualmente, la Autoridad Panameña de Seguridad de Alimentos (AUPSA), realiza los análisis para la detección de microorganismos patógenos, en laboratorios estatales externos que no trabajan de manera exclusiva con alimentos, sino que también realizan pruebas de diagnóstico clínico, farmacéutico y medicamentos. Estos laboratorios no tienen suficiente capacidad para aceptar las muestras de alimentos importados, por la falta de espacio físico y personal entrenado. También, poseen limitada capacidad de diagnóstico, debido a que hay técnicas o metodologías de laboratorio basados en las herramientas de la biología molecular para la detección de patógenos importantes de transmisión alimentaria, que no

realizan. Además, carecen de pruebas de detección y cuantificación química para residuos tóxicos de plaguicidas y de medicamentos de uso veterinario, validados para una limitada cantidad de familias de plaguicidas y de hormonas y antibióticos, y pocas matrices de alimentos donde se pueden detectar.

Esto impacta de forma negativa el cumplimiento del plan de monitoreo y vigilancia de la Dirección Nacional de Análisis de la AUPSA, particularmente para el rubro de carnes de origen bovino, porcino y aviar, que se importan en grandes cantidades especialmente en la época de fin de año. Las carnes para poder ingresar al territorio nacional, deben cumplir con los requisitos sanitarios previamente establecidos por la Dirección Nacional de Normas, y cumplir en el puerto o punto de ingreso con la verificación documental exigida por la Dirección Nacional de Verificación durante la inspección de la carga. Los productos cárnicos bovino y porcino vienen embalados en cajas de aproximadamente 25 a 50 kilos de peso. Está prohibido sub-muestrear en los puertos o puntos de entrada, debido a que no reúnen las condiciones que garanticen evitar la contaminación de la muestra, a excepción de los productos que estén empacados al vacío de forma individual. Por lo anterior, con pocas cajas se llenan los laboratorios, y es complicado asignar muestreo y análisis a todas las plantas aprobadas por Panamá. Además, muchas importaciones corresponden a materia prima de origen cárnico para la elaboración de productos de valor agregado como *nuggets*, tiritas de pollo, tortas de carne y otras.

Desde el punto de vista de salud pública, los peligros microbiológicos son uno de los más importantes que deben ser vigilados en los productos de alto riesgo, debido a que pueden causar enfermedades transmitidas por alimentos contaminados en pocas horas a días, y dependiendo del tipo de microorganismo, toxina o metabolito detectado y del estado inmunológico del consumidor, pueden ocasionar hasta la muerte. A diferencia de los residuos químicos que necesitan

múltiples exposiciones y acumularse en el organismo, para causar un efecto agudo o crónico en la salud humana.

1.3 JUSTIFICACIÓN DEL PROBLEMA

Panamá es un país de servicio y logística, la mayor parte de los ingresos que se adquieren corresponden al sector terciario, caracterizado por el Canal de Panamá, grandes puertos, zonas francas, y aeropuertos internacionales de conexión. El país se ha mantenido con un crecimiento económico, a pesar de la situación comercial mundial. Lo que ha incrementado la cantidad de turistas e inmigrantes. Todo lo anterior repercute en un ascenso en los últimos 5 años de la cantidad de alimentos importados, incluyendo productos cárnicos. Este incremento en la demanda de consumo, incluye la hostelería, restaurantes, franquicias y supermercados. Es fundamental la vigilancia que permita garantizar la inocuidad y calidad de los alimentos importados, con el objetivo de prevenir las enfermedades transmitidas por alimentos en la población.

La apertura de un laboratorio exclusivo para el análisis de alimentos, surge ante la necesidad de los constantes peligros causados por agentes patógenos microbiológicos, contaminantes químicos y físicos, alérgenos u otros que pueden ser transmitidos por los alimentos, seguido del incremento en los productos alimenticios importados para consumo humano y la poca capacidad de análisis con que cuenta el país.

El Laboratorio de Análisis de Alimentos de la AUPSA, permitirá ampliar la capacidad de diagnóstico y de matrices de alimentos analizados, el desarrollo de nuevas metodologías y técnicas, la inversión en equipo de punta y a futuro el desarrollo de líneas de investigación en I+D+I. Emisión de resultados en menor tiempo, que beneficiará la toma de decisiones de carácter prioritario para productos de alto riesgo, alertas sanitarias, operativos y otros, disminuyendo el riesgo de enfermedades transmitidas por alimentos, y garantizando la inocuidad y calidad de los alimentos importados que consume la población del país.

1.4 OBJETIVO GENERAL

Elaborar un manual de procedimiento de laboratorio de microbiología de alimentos, para la detección de patógenos en alimentos importados en la República de Panamá.

1.5 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1.5.1 Aplicar el diagnóstico molecular a productos cárnicos de origen bovino, porcino y aviar importados en la República de Panamá, para la determinación de posible presencia de *Escherichia coli* productora de toxina shiga (STEC) O157:H7 y no O157 (O26, O11, O12, O45, O111, O145).

1.5.2 Analizar la incidencia de *Escherichia coli* O157 y STEC no O157 como microorganismo patógeno presente en productos cárnicos importados, para la determinación de un posible retiro o destrucción.

1.5.3 Evaluar los resultados del diagnóstico como parte de la mejora continua, para optar por planes de contingencia que fortalezcan los sistemas de salud pública en el país.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 ORGANISMOS INTERNACIONALES DE CONTROL DE ALIMENTOS

Las organizaciones internacionales que se encargan de preparar las normas internacionales que rigen todo lo referente a la aplicación de las reglamentaciones en materia de higiene y protección de los alimentos (inocuidad alimentaria), en salud animal y en sanidad vegetal, y en lo que se refiere al comercio internacional son: el Codex Alimentarius, la Oficina Internacional de Epizootias (OIE), y la Convención Internacional de Medidas Fitosanitarias (CIPF), (Organización Mundial del Comercio, 2018; Organización Mundial de la Salud, 2018).

Estos tres entes internacionales proporcionan información actualizada sobre la presencia y evolución de enfermedades y plagas a nivel mundial que pudieran representar un riesgo serio para un país en particular, y sobre los últimos adelantos tecnológicos para su diagnóstico, prevención y control (Organización Mundial de la Salud, 2018).

2.1.1 Codex Alimentarius

A comienzos de los años sesenta, la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) y la Organización Mundial de la Salud (OMS) reconocieron la importancia de formular normas internacionales con el objeto de proteger la salud pública y de reducir al mínimo la perturbación del comercio internacional de productos alimenticios. Se estableció el Programa Conjunto FAO/OMS sobre Normas Alimentarias y se asignó a la Comisión del Codex Alimentarius la administración del programa (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, 1961; Codex Alimentarius/Normas Internacionales, 1997).

El Codex Alimentarius es el órgano competente para la compilación de normas, códigos de prácticas de higiene, directrices y recomendaciones en materia de inocuidad de los alimentos de carácter orientativo y de adopción voluntaria para la armonización de las distintas legislaciones entre los países. Brinda a todos los países la oportunidad de unirse a la comunidad internacional para armonizar las normas alimentarias y participar en su aplicación a escala mundial. También, en la formulación de normas alimentarias de uso internacional y contribuir a la elaboración de códigos de prácticas de higiene para la elaboración de recomendaciones relativas al cumplimiento de las normas (Codex Alimentarius/Normas Internacionales, 1997). El Codex está constituido por 189 países miembros, la mayoría de los cuales corresponde a países en desarrollo y miembros observadores (no intervienen en la toma de decisiones), que incluye a los países no miembros, organizaciones gubernamentales y no gubernamentales internacionales (Codex Alimentarius/Normas Internacionales, 1997).

Entre los principales objetivos del Codex Alimentarius tenemos proteger la salud de los consumidores, haciendo referencia a la importancia del consumo de alimentos inocuos, para reducir al mínimo el riesgo de desarrollo de enfermedades transmitidas por los alimentos y que durante toda la cadena alimentaria del Campo/Mar a la Mesa se cumplan con todos los pre-requisitos y requisitos como el Sistema de Análisis de Peligros y Puntos de Control Críticos (HACCP por sus siglas en inglés), Buenas Prácticas de Manufactura (BPM), Buenas Prácticas Agrícolas (BPA), y Procedimientos Operativos de Limpieza y Desinfección (SSOP por sus siglas en inglés), para garantizar, basado en el análisis de riesgo, la inocuidad de los productos alimenticios (Codex Alimentarius/Normas Internacionales, 1997). También, facilitar prácticas justas de comercio internacional y velar porque los consumidores tengan acceso a alimentos con calidad (Codex Alimentarius/Normas Internacionales, 1997).

Las principales áreas de interés para el Codex Alimentarius son: higiene de los alimentos, aditivos alimentarios, residuos de plaguicidas y de medicamentos veterinarios, contaminantes, etiquetado y presentación, métodos de análisis y muestreo, inspección y certificación de importaciones y exportaciones, entre otros (Codex Alimentarius/Normas Internacionales, 1997).

2.1.2 Organización Mundial de Sanidad Animal

La Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) es una organización intergubernamental encargada de mejorar la sanidad animal en el mundo. Está conformada por 180 países miembros y es normada por la Asamblea Mundial de Delegados de los países signatarios, que escogen al Director General, quién dirige las actividades de la OIE en la Sede Mundial y aplica las resoluciones del Comité elaboradas con el apoyo del Consejo, Comisiones Regionales y Comisiones especializadas que se seleccionan por los delegados (Organización Mundial de Sanidad Animal, 2018).

Entre los principales objetivos de la OIE tenemos la transparencia en la situación zoonositaria en el mundo, donde los países miembros se comprometen a declarar las enfermedades de animales que detectan en su territorio, para que los demás países puedan protegerse y tomar las medidas preventivas. Esto incluye las enfermedades zoonóticas (transmisibles de animales a los seres humanos), cuya difusión inmediata o diferida dependerá de la gravedad de la enfermedad (incluyendo la patogenicidad, virulencia, mecanismos de transmisión, entre otros). También, la información científica veterinaria nueva que se genere de los Laboratorios de Referencia y Centros Colaboradores en la lucha contra las enfermedades de los animales. La solidaridad internacional para la asesoría técnica de los países miembros particularmente los de escasos recursos. La seguridad sanitaria del comercio mundial, la promoción de los servicios

veterinarios, la seguridad de los alimentos y bienestar animal (Organización Mundial de Sanidad Animal, 2018).

Las principales áreas de interés para la OIE son: bienestar animal, enfermedades de los animales, resistencia a los antimicrobianos, riesgos biológicos, seguridad sanitaria de los alimentos, normas y comercio internacional, vacunas, desarrollo diagnóstico, entre otros (Organización Mundial de Sanidad Animal, 2018).

2.1.3 Convención Internacional de Protección Fitosanitaria

La Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF) es un acuerdo de colaboración internacional de sanidad vegetal, que tiene como objetivo proteger las plantas cultivadas y silvestres previniendo la introducción y la propagación de plagas. Cuenta con 182 países signatarios. Su órgano rector es el Comité de Medidas Fitosanitarias (CMF). La Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) proporciona la Secretaría que es la responsable de la coordinación de las actividades centrales del programa de trabajo de la CIPF. Las Organizaciones Regionales de Protección Fitosanitaria (ORPF) son organizaciones intergubernamentales que funcionan como órgano de coordinación regional de las organizaciones nacionales de protección fitosanitaria (Convención Internacional de Protección Fitosanitaria, 1997).

Entre los principales objetivos de la CIPF tenemos garantizar la aplicación del Acuerdo de Medidas Sanitarias y Fitosanitarias (AMSF) de la Organización Mundial del Comercio (OMC), promoviendo la armonización de las medidas comerciales fitosanitarias entre los miembros de la OMC y ayudar a solucionar las diferencias comerciales con una base fitosanitaria entre los Estados Miembros (Convención Internacional de Protección Fitosanitaria, 1997).

Las principales áreas de interés para la CIPF son: seguridad alimentaria, protección al medio ambiente, facilitación del comercio, creación de capacidades, entre otros (Convención Internacional de Protección Fitosanitaria, 1997).

2.2 INOCUIDAD DE LOS ALIMENTOS

Según el Codex Alimentarius la inocuidad puede definirse como *“la garantía de que los alimentos no causarán daño al consumidor cuando se preparen y/o se consuman, de acuerdo con el uso al que se destinen, e incluyen los alimentos para consumo humano o animal”* (Codex Alimentarius/Normas Internacionales, 1997).

Un alimento es toda sustancia elaborada, semielaborada o bruta, que se destine al consumo humano, incluyendo bebidas, chicles y cualquier otra sustancia que se utilice en la fabricación, preparación o tratamiento de los alimentos (Codex Alimentarius/Definiciones, 1997).

Un contaminante es cualquier sustancia no añadida intencionalmente al alimento, que está presente en dicho alimento como resultado de la producción (incluidas las operaciones realizadas en agricultura, zootecnia y medicina veterinaria), fabricación, elaboración, preparación, tratamiento, envasado, empaquetado, transporte o almacenamiento de dicho alimento o como resultado de contaminación ambiental (Codex Alimentarius/Definiciones, 1997). Este término no abarca fragmentos de insectos, pelos de roedores y otras materias extrañas.

Es importante tener un control de la contaminación en los alimentos para consumo humano y animal desde la producción primaria hasta el consumo final. Un sistema de control de los alimentos tiene como objetivo proteger la salud del consumidor y garantizar prácticas leales en el comercio de los alimentos. Para esto es necesario

buenas prácticas de higiene durante la producción, elaboración, manipulación, distribución, almacenamiento, venta y uso. En conjunto con la aplicación del Sistema HACCP (Codex Alimentarius/Normas Internacionales, 1997; Organización Mundial del Comercio, 2018).

Los alimentos pueden ser contaminados por peligros microbiológicos, químicos o físicos. La contaminación puede ocurrir en cualquier punto de la cadena alimentaria, inclusive en casa si no se preparan de forma correcta y se evita la contaminación cruzada durante la preparación. Por lo que a nivel nacional e internacional el proceso de análisis de riesgo de los alimentos es importante para garantizar la inocuidad y proteger la salud pública (Codex Alimentarius/Normas Internacionales, 1997; Codex Alimentarius/Análisis de Riesgo, 1997).

2.3 ANÁLISIS DE RIESGOS

El análisis de riesgos es un proceso que comprende tres etapas: 1. Evaluación de riesgos, 2. Gestión de riesgos, y 3. Comunicación de riesgos (Codex Alimentarius/Análisis de Riesgo, 1997).

2.3.1 Evaluación de Riesgos: se definió por la FAO/OMS en 1995 como un proceso de base científica que evalúa los efectos perjudiciales, conocidos o potenciales, resultantes de la exposición humana a los riesgos derivados de los alimentos. Este proceso consta de las siguientes etapas: i) identificación del peligro, ii) caracterización del peligro, iii) evaluación de la exposición, y iv) caracterización del riesgo (FAO/OMS, 1995).

i) Identificación del peligro: determinación de los agentes biológicos, químicos y físicos que pueden causar efectos nocivos para la salud y que pueden estar

presentes en un determinado alimento o grupo de alimentos (Codex Alimentarius/Definiciones, 1997).

ii) Caracterización del peligro: evaluación cualitativa y/o cuantitativa de la naturaleza de los efectos nocivos para la salud relacionados con agentes biológicos, químicos y físicos que pueden estar presentes en los alimentos (Codex Alimentarius/Definiciones, 1997).

En el caso de agentes químicos, deberá realizarse una evaluación de la relación dosis-respuesta, para determinar la relación entre la magnitud de la exposición (dosis) y la gravedad y/o frecuencia del efecto nocivo para la salud (Codex Alimentarius/Definiciones, 1997).

iii) Evaluación de la exposición: evaluación cualitativa y/o cuantitativa de la ingestión probable de agentes biológicos, químicos y físicos a través de los alimentos (Codex Alimentarius/Definiciones, 1997).

iv) Caracterización del riesgo: estimación cualitativa y/o cuantitativa, incluidas las incertidumbres concomitantes, de la probabilidad de que se produzca un efecto nocivo, conocido o potencial, y de su gravedad para la salud de una determinada población, basada en la determinación del peligro, su caracterización y la evaluación de la exposición (Codex Alimentarius/Definiciones, 1997).

La evaluación de riesgos es un medio que sirve para proporcionar un cálculo de la probabilidad y la gravedad de la enfermedad que se atribuya a determinada combinación de patógenos-productos. También puede utilizarse para justificar la introducción de normas más estrictas para los alimentos de importación (Codex Alimentarius/Análisis de Riesgo, 1997).

2.3.2 Gestión de Riesgos: se definió por la FAO/OMS en 1997 como un proceso de ponderación de las distintas opciones normativas a la luz de los resultados de la evaluación de riesgos y, si fuera necesario, de la selección y aplicación de las posibles medidas de control apropiadas, incluidas las medidas reglamentarias (FAO/OMS, 1997). Uno de los principales objetivos de la gestión de riesgo es evitar o mitigar un riesgo determinado relacionado con la inocuidad y otros que no se relacionan con alimentos (FAO/OMS, 1997).

2.3.3 Comunicación de Riesgos: se definió por la FAO/OMS en 1998 como el intercambio de información y opiniones sobre los riesgos y los factores relacionados con los riesgos entre las personas encargadas de la evaluación de los riesgos, las encargadas de la gestión de los riesgos, los consumidores y otras partes interesadas (FAO/OMS, 1998). Los objetivos de la comunicación de riesgos son fomentar la fiabilidad y la confianza del público en la inocuidad del suministro alimentario e intercambiar información, actitudes, valores, prácticas y percepciones de las partes interesadas sobre los riesgos que acompañan a los alimentos y temas conexos (FAO/OMS, 1998).

2.3.4 Peligros Presentes en los Alimentos

Los peligros se clasifican según su naturaleza en peligros biológicos, químicos y físicos.

Los peligros biológicos son bacterias, virus y parásitos patógenos, los priones, determinadas toxinas naturales, toxinas microbianas, y determinados metabolitos tóxicos de origen microbiano (Organización Panamericana de la Salud, 2018).

Los peligros químicos son los pesticidas, herbicidas, contaminantes tóxicos inorgánicos y orgánicos, antibióticos, promotores de crecimiento, aditivos

alimentarios tóxicos, lubricantes y tintas, desinfectantes, micotoxinas, ficotoxinas, biotoxinas marinas, metil y etilmercurio y otros metales pesados, e histamina (Organización Panamericana de la Salud, 2018).

Los peligros físicos son fragmentos de vidrio, metal, madera u otros objetos que puedan causar daño físico al consumidor (Organización Panamericana de la Salud, 2018).

La contaminación de los alimentos por agentes microbiológicos es un problema de salud pública en todo el mundo. En las últimas décadas, la mayoría de los países han registrado un importante aumento en la incidencia de enfermedades provocadas por la presencia de microorganismos en los alimentos (Organización Mundial de la Salud, 2018). Las enfermedades transmitidas por los alimentos son generalmente de carácter infeccioso o tóxico y son causadas por microorganismos o sustancias químicas que penetran en el organismo a través del agua o los alimentos contaminados (Organización Mundial de la Salud, 2018).

No todos los peligros microbiológicos se evaluarán de la misma forma. Esto dependerá del tipo de microorganismo y de la gravedad de los síntomas que pueda desarrollar en el individuo (Organización Mundial de la Salud, 2018; Organización Panamericana de la Salud, 2018). El potencial de peligro que presente un microorganismo puede ser moderado a grave. De esta manera, los peligros pueden clasificarse según su gravedad para la salud del ser humano en alto, moderado y bajo (Organización Panamericana de la Salud, 2018).

El peligro alto causa efectos graves para la salud, con posibilidad de muerte. Generalmente incluye hospitalización. El peligro moderado es de diseminación potencialmente extenso. La patogenicidad es menor y el grado de contaminación es menor. Los efectos pueden revertirse con atención médica y pueden incluir

hospitalización. El peligro bajo es de diseminación limitada. Es común en epidemias, la diseminación posterior es rara o limitada, provoca enfermedad cuando los alimentos ingeridos contienen gran cantidad de patógenos (Organización Panamericana de la Salud, 2018).

2.3.5 Criterios Microbiológicos

El criterio microbiológico para un alimento define la aceptabilidad de un producto o un lote de un alimento basada en la ausencia o presencia, o en la cantidad de microorganismos, incluidos parásitos, y/o en la cantidad de sus toxinas/metabolitos, por unidad o unidades de masa, volumen, superficie o lote (Codex Alimentarius/Criterios Microbiológicos, 2018).

Los microorganismos que se incluyan en un criterio microbiológico deberán considerarse como patógenos, organismos indicadores o bien organismos de deterioro para un producto alimenticio (Codex Alimentarius/Criterios Microbiológicos, 2018).

Es importante mencionar que los microorganismos patógenos (adulterantes) no son buenos competidores, por lo que no causan daño aparente en las características sensoriales de un alimento o producto alimenticio. A diferencia un organismo de deterioro si causa cambios de color, olor y sabor, por lo que su presencia es evidente. Por esta razón, es necesario crecer en medios de cultivo enriquecidos (ricos en nutrientes), a los microorganismos patógenos que se encuentran en pequeñas cantidades. Los patógenos son importantes para la salud pública porque son los responsables del desarrollo de enfermedades.

Los componentes de un criterio microbiológico incluyen (Codex Alimentarius/Criterios Microbiológicos, 2018):

1. Una descripción de los microorganismos que son de importancia y/o sus toxinas/metabolitos.
2. Los métodos analíticos para su detección y/o cuantificación.
3. Los límites microbiológicos que se consideran apropiados para el alimento en un punto o puntos del proceso.
4. Un plan que defina el número de muestras que hay que tomar y el tamaño de las muestras.

Un criterio microbiológico debe indicar también (Codex Alimentarius/Criterios Microbiológicos, 2018):

1. El alimento al que se aplica el criterio
2. El punto o los puntos de la cadena alimentaria en que se aplica el criterio
3. Toda medida que deba adoptarse cuando no se cumple con dicho criterio.

2.4 ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR LOS ALIMENTOS

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) constituyen en la actualidad un importante problema de salud pública, debido al incremento de la emergencia y re-emergencia de patógenos transmitidos por alimentos como bacterias, virus, parásitos, hongos, la aparición de nuevos escenarios epidemiológicos y formas de transmisión, la detección y ampliación de nuevas plagas, el problema del uso indiscriminado de medicamentos veterinarios en los animales y su relación con el desarrollo de resistencias antimicrobianas en los animales y el hombre, las zoonosis, o debido a eventos adversos no planeados por el hombre que afectan la cadena de producción y distribución de alimentos (Organización Mundial de la Salud, 2018; Ministerio de Salud/Guía VETA/PAN, 2013; Ministerio de Salud/Guía VETA PAN, 2001). Todo lo anterior repercute de manera negativa teniendo un impacto social y económico en los países.

Los alimentos son vehículos potenciales que permiten la transmisión de patógenos de importancia en salud pública, debido a peligros inherentes como microorganismos adulterantes y toxinas microbianas producto de su metabolismo, que no causan daño aparente, ni deterioro a los alimentos, pero que sí están presentes ocasionan enfermedades (Organización Mundial de la Salud, 2018).

Los patógenos de transmisión alimentaria pueden causar diarrea grave o infecciones debilitantes, como la meningitis. La contaminación por sustancias químicas puede provocar intoxicaciones agudas o enfermedades de larga duración, como el cáncer. Las enfermedades transmitidas por los alimentos pueden causar discapacidad persistente y muerte (Organización Mundial de la Salud, 2018). Algunos ejemplos de alimentos contaminados son los de origen animal mal cocidos, las frutas y vegetales contaminadas con heces o regadas con aguas contaminadas, y los mariscos crudos que contienen biotoxinas marinas (Organización Mundial de la Salud, 2018).

La garantía de contar con alimentos inocuos, es fundamental para la protección de la salud humana y para mejorar la calidad de vida de los países. Cada brote de enfermedades transmitidas por alimentos tiene una serie de costos directos e indirectos, que afecta la salud pública, la economía de los países y el comercio internacional de los alimentos (Organización Mundial de la Salud, 2018; Organización Panamericana de la Salud, 2018).

En el año 2015 la OMS, publicó las primeras estimaciones de la carga mundial de enfermedades transmitidas por los alimentos, que indicaban que en 2010 más de 600 millones de personas contrajeron enfermedades transmitidas por los alimentos causadas por 31 agentes microbiológicos y químicos, incluyendo la bacteria *Escherichia coli* productora de toxina *shiga* (STEC, por sus siglas en inglés), y causaron 420,000 muertes (Organización Mundial de la Salud, 2018).

En los países en vía de desarrollado, las infecciones diarreicas representan la segunda causa de muerte en infantes, con un total de 1.5 millones de muertes cada año debido a agentes como *E. coli*, *Vibrio cholerae*, *Shigella*, y virus gastrointestinales (Paniagua, 2007).

Las enfermedades gastrointestinales son uno de los principales problemas de salud pública en los países de América Latina (Hernández-Cortez, 2011). Se transmiten, por vía oro-fecal, o bien por el consumo de agua y alimentos contaminados. Afectan principalmente a la población infantil y tanto su incidencia como su prevalencia, dependen del nivel socioeconómico de los individuos. Los principales agentes patógenos involucrados son virus, parásitos y bacterias.

La detección eficiente de microorganismos patógenos en productos alimenticios, es un asunto de alta importancia para los gobiernos y los sistemas de salud pública; porque reducen el riesgo de desarrollo de enfermedades por el consumo de alimentos contaminados con microorganismos patógenos, ya sean de producción local o importados, y reducen las tasas de morbilidad y mortalidad de los países y mejoran sus índices de salud.

Las enfermedades transmitidas por los alimentos constituyen un problema mundial. En los países desarrollados y en los países en desarrollo se encuentran dificultades considerables para estimar con certeza la incidencia real y los costos asociados a las ETA. Por esa razón, las instituciones sanitarias y los organismos internacionales responsables del tema mantienen programas permanentes y destinan recursos significativos para abordar el problema (Ministerio de Salud/Guía VETA/PAN, 2013).

2.5 SITUACIÓN DE PANAMÁ

La República de Panamá cuenta con un Programa de Vigilancia de Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA), orientado mediante la guía VETA/PAN (basado en la versión de la GUÍA-VETA publicada en el 2001 por el Instituto Panamericano de Protección de Alimentos y Zoonosis, INPPAZ/OPS/OMS), la cual se elaboró en agosto de 2013 (Ministerio de Salud/Guía VETA/PAN, 2013; Ministerio de Salud/Guía VETA PAN, 2001).

El Programa o Guía para la Vigilancia de Enfermedades Transmitidas por Alimentos (VETA), permitirá fortalecer la vigilancia epidemiológica, al mejorar el sistema para la detección y caracterización de brotes, a fin de proponer medidas de control y prevención de nuevas ocurrencias; mejorando la capacidad de análisis y uso de la información, incluyendo la comunicación de información y la retroalimentación a los distintos niveles del sistema (Ministerio de Salud/Guía VETA/PAN, 2013).

En el año 2016 según datos del Ministerio de Salud de Panamá, se reportaron 81 casos de muerte por enfermedad diarreica aguda en menores de 5 años (Ministerio de Salud/Estadística de Salud, 2016). Mientras para este mismo año, la gastroenteritis y colitis de origen no especificado ocupó el segundo lugar con 125,071 casos (59,665 hombres y 65,406 mujeres), como las principales causas de morbilidad en adultos (Ministerio de Salud/Estadística de Salud, 2016). No hay datos actualizados de morbilidad por enfermedades gastrointestinales en menores de 5 años desde el año 2015. Los últimos datos publicados en 2014 colocan a las enfermedades gastrointestinales en tercer lugar para los índices de morbilidad.

En Panamá existe un fuerte sub-registro de las ETA. Cuando las personas se enferman (adultos o niños) no tienen la cultura de asistir a una consulta médica

buscando el asesoramiento profesional que los oriente a saber si el cuadro de vómito, diarrea o gastroenteritis que presentan se debe al consumo de alimentos contaminados, adulterados o mal cocidos. Esto puede deberse a la falta de conocimiento de la población de la importancia de la inocuidad de los alimentos y las enfermedades transmitidas por los alimentos.

Otro factor importante, es que en algunos casos el laboratorio no identifica el agente etiológico, porque no se toman las muestras a tiempo, o porque se toman cuando el período de incubación del agente patógeno ha pasado y por ende decae su replicación y población. Además, los resultados positivos no se comunican a las instituciones de salud pública responsables de la vigilancia. Esto constituye una desventaja considerable para el análisis e interpretación de la información.

Las boletas epidemiológicas utilizadas para registrar los brotes en forma digital están completas con respecto a la información del paciente (edad, residencia, atención recibida, entre otras), pero no se complementan con los resultados de los laboratorios. Estas fallas limitan la realización de diagnósticos precisos que permitan diseñar políticas y realizar acciones preventivas y correctivas para reducir el posible impacto de las ETA sobre la salud y la economía. A lo anterior se suma la insuficiente organización sistemática y la actualización de la información sobre brotes. La coordinación entre las distintas entidades tampoco está implementada en forma satisfactoria, dificultando la recopilación y la centralización de la información sobre los brotes de ETA. Para corregir estas deficiencias, el país deberá destinar mayores recursos para la capacitación de personal en las distintas entidades, a fin de poner a punto el sistema de vigilancia epidemiológica, así como para mejorar la infraestructura de los laboratorios de análisis.

La vigilancia de las ETA es esencial para caracterizar la dinámica epidemiológica y orientar la planificación de las políticas, las estrategias de control y prevención,

evaluar el impacto de las intervenciones de los programas de inocuidad de alimentos e identificar áreas prioritarias de investigación particularmente a nivel local (Organización Mundial de la Salud, 2018; Ministerio de Salud/Guía VETA/PAN, 2013).

2.6 MARCO INSTITUCIONAL

El Presidente de la República, en uso de sus facultades constitucionales, aprobó el Decreto Ley No. 11 de 22 de febrero de 2006 (Gaceta Oficial N°25,493 de 24 de febrero del 2006), el cual crea la Autoridad Panameña de Seguridad de Alimentos (AUPSA) y dicta otras disposiciones, con el propósito de cumplir con los objetivos de (Autoridad Panameña de Seguridad de Alimentos, 2006):

1. Asegurar un nivel elevado de protección de la salud humana, el patrimonio agropecuario del país y de los intereses de los consumidores con relación a los alimentos importados, teniendo en cuenta la diversidad y calidad de su suministro.
2. Establecer principios, responsabilidades y procedimientos científicos y técnicos en materia de seguridad y calidad de los alimentos importados.
3. Asegurar una base científica y técnica para la protección de la salud humana y del patrimonio agropecuario en materia de los alimentos importados.
4. Establecer disposiciones y procedimientos para la toma de decisiones en materia referentes a la seguridad de los alimentos.
5. Facilitar el intercambio comercial internacional de alimentos.
6. Asegurar la aplicación uniforme y consistente de la normativa jurídica nacional e internacional, los reglamentos técnicos, los protocolos interinstitucionales, los manuales de procedimientos, los estándares de calidad, los parámetros de las matrices de riesgos y los contratos de servicios en materia de seguridad de alimentos.

La Autoridad, en su compromiso de proteger la salud humana y el patrimonio agropecuario del país con relación a los alimentos importados, ejecuta sus funciones para asegurar el cumplimiento y la aplicación de leyes y reglamentos en materia de introducción de alimentos al territorio nacional, en todas las etapas del almacenaje en zonas libres, zonas procesadoras, importación, tránsito y/o trasbordo (Autoridad Panameña de Seguridad de Alimentos, 2006).

2.6.1 Visión y Misión

Visión: ser una entidad que garantice a los consumidores la introducción de alimentos de calidad, libres de plagas y enfermedades, basado en criterios estrictamente científicos y técnicos.

Misión: asegurar el cumplimiento y la aplicación de las leyes para la inocuidad de los alimentos introducidos, en beneficio de los consumidores utilizando los métodos científicos técnicos sobre los principios de equidad y transparencia.

2.6.2 Direcciones Técnicas

La AUPSA está dividida en tres Direcciones Técnicas (Autoridad Panameña de Seguridad de Alimentos, 2006): 1) la Dirección Nacional de Normas (DINAN), cuya principal función es establecer los requisitos sanitarios y/o fitosanitarias que deberán cumplir los alimentos para su introducción al territorio nacional; 2) la Dirección Nacional de Verificación (DINAVE), que debe verificar el cumplimiento de los requisitos sanitarios y/o fitosanitarios que deberán cumplir los alimentos para su introducción al territorio nacional; y 3) la Dirección Nacional de Análisis y Control de Alimentos Importados (DINACAI), cuya función principal es realizar muestreos y encomendar los análisis de los alimentos introducidos al territorio nacional, según dispongan las normas y/o medidas sanitarias y/o fitosanitarias

para la importación de alimentos basados en una evaluación de riesgo, con el fin de identificar y prevenir la introducción y establecimiento de plagas y enfermedades transmisibles por alimentos que puedan afectar la salud humana, el patrimonio animal y vegetal del país.

DINACAI está dividida en el Departamento de Muestreo y el Departamento de Laboratorio. Este último está conformado por Módulos de Entomología ubicados en todos los puertos o puntos de ingreso de AUPSA y por el Laboratorio de Análisis de Alimentos. Los Módulos de Entomología son estaciones encargadas de identificar y prevenir la introducción de ácaros y plagas exóticas de interés cuarentenario en frutas, vegetales frescos, granos y cereales. Mientras el Laboratorio de Análisis de Alimentos es para el diagnóstico microbiológico y químico (Autoridad Panameña de Seguridad de Alimentos, 2006).

2.7 ORGANIGRAMA

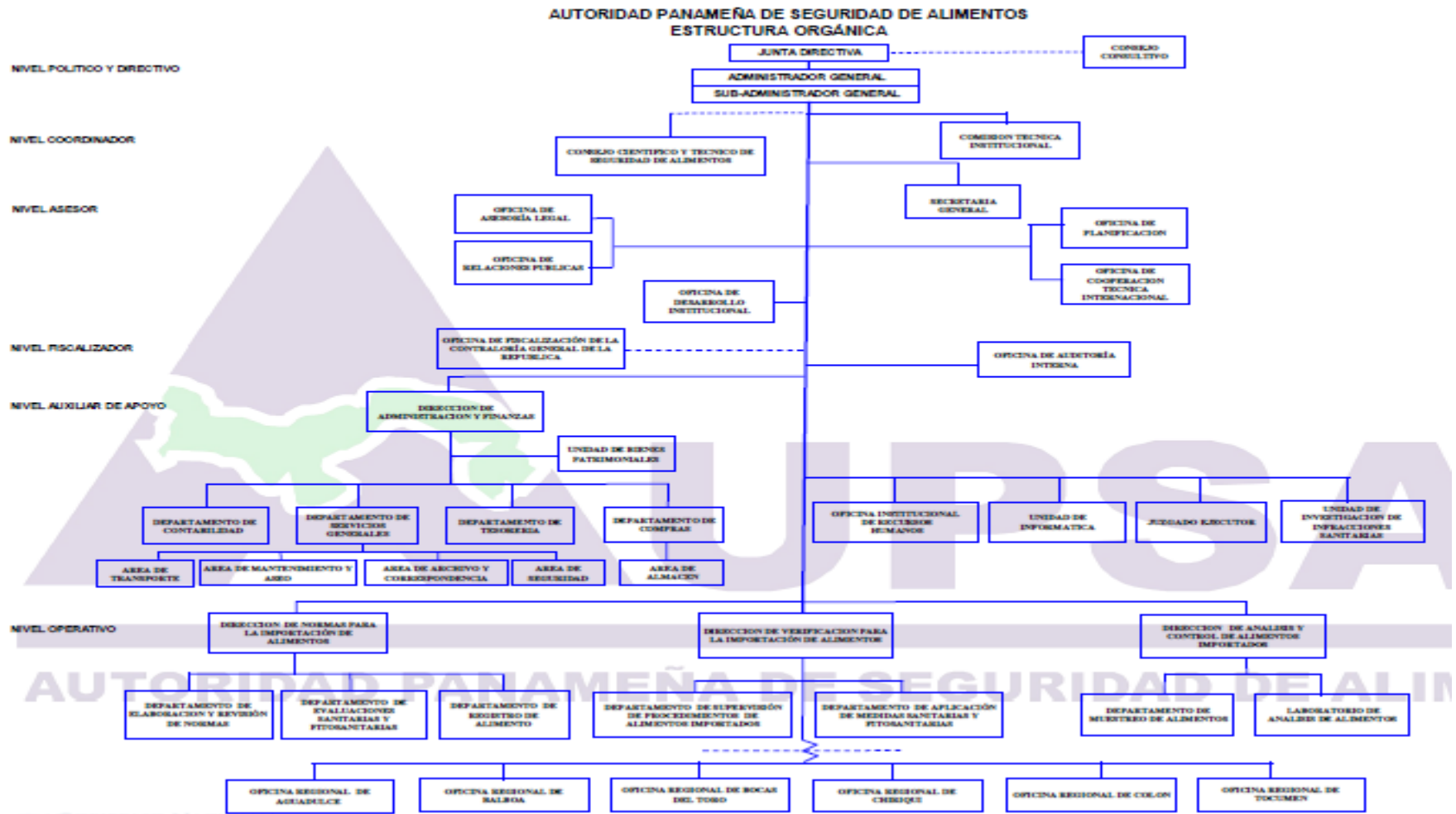


Figura 1. Estructura Organizativa de la Autoridad Panameña de Seguridad de Alimentos.

Fuente: (Autoridad Panameña de Seguridad de Alimentos, 2006).

2.8 REQUISITOS PARA ELEGIBILIDAD Y APROBACIÓN DE PAÍS

Para que un producto cárnico (bovino, porcino y aviar) importado pueda ser introducido a Panamá, necesita ser aprobada la elegibilidad del país. Esto significa que un comité técnico interinstitucional evalúa el estatus zoonosario del país interesado, principalmente para las enfermedades de obligatoria notificación ante la OIE. Este comité es responsable de realizar una revisión completa del historial durante los últimos 5 años de brotes o reportes de enfermedades importantes tanto a nivel veterinario como de enfermedades zoonóticas como fiebre aftosa, encefalopatía espongiforme bovina (enfermedad de las vacas locas), tuberculosis, brucelosis y otras. Si el comité aprueba la elegibilidad del país, basado en un sistema sanitario seguro en el momento de la revisión documental y que no representa riesgo para Panamá, esta aprobación es por un término de 3 años. Sin embargo, ante la notificación de brotes o reportes por parte de la OIE o de los sistemas sanitarios del país interesado, automáticamente queda bloqueado su ingreso a Panamá, hasta que se demuestre basado en evidencia científica, que no representa riesgo para el patrimonio agropecuario del país (Autoridad Panameña de Seguridad de Alimentos/Elegibilidad de País, 2013).

Luego, se realiza una inspección en origen (auditoria *in situ*) por parte del personal técnico de AUPSA, para evaluar y verificar las plantas o establecimientos interesados. Esto incluye la visita de todo el sistema: granjas, plantas de sacrificio, plantas de procesamiento, revisión documental del sistema sanitario y de los procesos (pre-requisitos BPA, BPM, y SSOP), y HACCP. Posteriormente, se presenta esta evaluación al Comité Científico Técnico de AUPSA (conformada por los tres Directores Nacionales y el Administrador General), para su aprobación o rechazo, basado en el cumplimiento de los controles de calidad e higiene de las plantas o establecimientos interesados, para importar productos cárnicos y

elaborados a Panamá (Autoridad Panameña de Seguridad de Alimentos/Elegibilidad de País, 2013).

La inspección que se realiza en los establecimientos nacionales de sacrificio de animales para consumo humano en el país es competencia del Ministerio de Salud a través del Departamento de Protección de Alimentos (DEPA), que tiene la responsabilidad de mantener la vigilancia sanitaria de las carnes para consumo humano, mediante los sistemas de inspección veterinaria y verificación de los planes de aseguramiento de la calidad higiénico sanitaria (Ministerio de Salud de Panamá/Departamento de Protección de Alimentos, 2018).

En la siguiente tabla presentamos los países aprobados y el tipo de producto cárnico que importan a Panamá (Autoridad Panameña de Seguridad de Alimentos, 2006).

Tabla 1. Países aprobados para importar productos cárnicos a Panamá.

País	Producto
Estados Unidos	Cárnicos de origen bovino, porcino y aviar, pavos.
Canadá	Cárnicos de origen porcino
Chile	Cárnicos de origen bovino, porcino y ovino
Argentina	Cortes de carne sin hueso de origen bovino
Uruguay	Cortes de carne sin hueso de origen bovino
Perú	Carne de pavo, pavos
México	Cárnicos de origen bovino
Nicaragua	Cárnicos de origen bovino
Costa Rica	Cárnicos de origen porcino

Fuente: (Autoridad Panameña de Seguridad de Alimentos/Datos Estadísticos, 2018).

2.9 MUESTREO

El Codex Alimentarius define una muestra representativa como un conjunto formado por uno o más elementos (o parte de un producto) seleccionados por distintos medios en una población (o en una cantidad importante de producto), y que mantiene las características del lote del que procede (Codex Alimentarius/Directrices Generales Muestreo, 2004). Tiene por objeto ofrecer información sobre una característica determinada de la población (o el producto) analizado, y servir de base para adoptar una decisión relativa a la población, el producto o el proceso que los haya generado (Codex Alimentarius/Directrices Generales Muestreo, 2004).

Un plan de muestreo es un procedimiento planificado que permite seleccionar o tomar muestras separadas de un lote para obtener la información necesaria. Es un esquema en el que se determina el número de elementos que deben recogerse y el número de elementos no conformes que se requieren en una muestra para evaluar el grado de cumplimiento de las normas en un lote (Codex Alimentarius/Directrices Generales Muestreo, 2004).

Un plan de muestreo correctamente diseñado define la probabilidad de detección de microorganismos en un lote, pero debe tenerse presente que ningún plan de muestreo puede asegurar la ausencia de un determinado organismo. Para seleccionar un plan de muestreo es importante tener presente: los riesgos para la salud pública asociados con el peligro, la susceptibilidad del grupo de consumidores destinatario, la heterogeneidad de distribución de los microorganismos cuando se utilizan planes de muestreo con variables (Codex Alimentarius/Directrices Generales Muestreo, 2004).

Una buena muestra es la base para un buen análisis y para un resultado confiable, de ahí la importancia de los cuidados que se deben tener para la toma y manipulación de las mismas. Se entiende que una buena muestra debe ser representativa, adecuada al procedimiento a ejecutar y los criterios que han de aplicarse al lote, contar con el número y tamaño de muestras que permita realizar el análisis y alcanzar resultados confiables, condiciones apropiadas y material de recolección, condiciones de conservación y de envío, así como la correcta identificación de las mismas (Autoridad Panameña de Seguridad de Alimentos/Manual de Muestreo, 2013).

2.9.1 Sistema de Notificación de Importación

La AUPSA cuenta con un Sistema de Notificación de Importación de Alimentos (SISNIA), que asigna de forma aleatoria a las notificaciones de importación, muestreo para análisis de laboratorio basado en una evaluación de riesgos, los posibles peligros microbiológicos, químicos y físicos, población de riesgo (consumidores), fracciones o partidas arancelarias de 10 cifras que especifican el producto alimenticio, alertas sanitarias o fitosanitarias (Autoridad Panameña de Seguridad de Alimentos/Manual de Muestreo, 2013; Autoridad Panameña de Seguridad de Alimentos, 2006).

Todas las plantas aprobadas de países elegibles para importar productos cárnicos a Panamá son consideradas en esta programación de muestreo. Se les realiza monitoreo de vigilancia que incluye controles microbiológicos, de residuos químicos y de otros contaminantes (Autoridad Panameña de Seguridad de Alimentos/Manual de Muestreo, 2013). A través del plan de muestreo se pretende vigilar y evitar que microorganismos patógenos afecten la salud pública.

Una notificación es un formulario mediante el cual el importador, informa previamente el alimento, origen, procedencia, volumen y fecha aproximada de ingreso al territorio nacional (Autoridad Panameña de Seguridad de Alimentos, 2006).

Un importador es la persona natural o jurídica, pública o privada, que introduce alimentos o productos alimenticios al territorio nacional, para fines de consumo humano o animal, re-exportación y procesamiento (Autoridad Panameña de Seguridad de Alimentos, 2006).

Un lote (N) se puede definir como el conjunto de unidades de un solo producto básico, identificable por su composición homogénea, origen, productor, variedad, envasador, tipo de envase, marcas, envasador, expedidor o consignatario, que forma parte de un envío (Autoridad Panameña de Seguridad de Alimentos, 2006).

2.9.2 Toma de Muestra

Las muestras de productos cárnicos son tomadas por médicos veterinarios de DINAVE en los recintos o bodegas destinadas para este fin, luego de verificar en los puntos de ingreso que la carga cumple con la documentación requerida para la introducción al país. Esta documentación incluye el certificado de libre venta en el país de origen, certificado sanitario, la notificación en el SISNIA con toda la información referente a la importación y del producto a importar, y el manifiesto de carga (Autoridad Panameña de Seguridad de Alimentos/Manual Procedimiento de Verificación, 2017).

En el recinto o bodega se verifica el historial de la temperatura durante el tránsito, con el objetivo de comprobar que el contenedor ha mantenido la temperatura de congelación y la cadena de frío. Luego, se realiza una verificación física que

consiste en un examen sistemático del producto, su embalaje, las indicaciones del etiquetado, descripción del producto, lote, planta de procesamiento y las condiciones de conservación o condiciones físicas del interior del contenedor (Autoridad Panameña de Seguridad de Alimentos/Manual Procedimiento de Verificación, 2017).

Para la toma de muestra y envío al laboratorio se utilizarán los formularios de los Formatos de Orden de Análisis y Acta de Toma de Muestra de DINACAI, debidamente registrados, firmados y sellados, que permitan identificar sin ambigüedad cada lote, que indique la fecha y el lugar del muestreo, así como toda información adicional que pueda resultar útil al analista (Autoridad Panameña de Seguridad de Alimentos/Manual de Muestreo, 2013).

Una vez tomadas las muestras serán guardadas en bolsas de plásticos cerradas con sellos de seguridad e identificación respectiva, manteniendo la cadena de frío. Se deberán colocar en recipientes limpios como hieleras con refrigerante o hielo seco. Las muestras deberán enviarse al laboratorio tan pronto como sea posible y ser analizadas a más tardar 24 horas después de su toma (Autoridad Panameña de Seguridad de Alimentos/Manual de Muestreo, 2013).

El tiempo que transcurra entre la toma de la muestra y su análisis deberá ser lo más pronto posible. Durante el transporte al laboratorio, las condiciones como la temperatura no deberán permitir que aumente o disminuya la cantidad de los posibles microorganismos que se desean detectar. De forma que los resultados reflejen dentro de las limitaciones establecidas en el plan de muestreo las condiciones microbiológicas del lote (Autoridad Panameña de Seguridad de Alimentos/Manual de Muestreo, 2013).

2.9.3 Emisión de Resultados

Un resultado de laboratorio es un criterio científico-técnico fundamentado en normativas y reglamentos nacionales e internacionales. Los resultados pueden ser Conformes (cuando cumple con el criterio de aceptación establecido en la legislación panameña o en la normativa internacional) o No Conforme (cuando incumple con los criterios de aceptación establecido en la legislación panameña o en la normativa internacional) (Autoridad Panameña de Seguridad de Alimentos/Manual de Muestreo, 2013; Autoridad Panameña de Seguridad de Alimentos, 2006).

Ante un resultado positivo para un microorganismo que según la evaluación de riesgo ponga en peligro la salud pública de la población, se solicitará al importador la destrucción supervisada por personal técnico de AUPSA. La Autoridad deberá mantener un registro de la destrucción del lote de productos afectados con sus respectivos resultados (Autoridad Panameña de Seguridad de Alimentos/Manual Procedimiento de Verificación, 2017; Autoridad Panameña de Seguridad de Alimentos/Manual de Muestreo, 2013).

Se le notificará al importador que, en la siguiente entrada del producto afectado, la carga será retenida sujeta al resultado de laboratorio, para asegurar de que el establecimiento ha implementado las debidas medidas correctivas. También, que se cambiará el muestreo de rutina por un bloque de muestreo de seguimiento por resultado positivo. Si alguna de las muestras de seguimiento sale positiva, se determinará que las acciones correctivas aplicadas son inapropiadas o no efectivas (Autoridad Panameña de Seguridad de Alimentos/Manual de Muestreo, 2013). En este caso la AUPSA informará al establecimiento directamente de la suspensión de la aprobación de la planta afectada, de la retención de todos los productos y la recolección de los mismos del mercado (Autoridad Panameña de

Seguridad de Alimentos/Manual de Muestreo, 2013; Autoridad Panameña de Seguridad de Alimentos, 2006).

El establecimiento deberá enviar a la AUPSA por escrito las medidas correctivas y compromisos, las evidencias de las correcciones y la Autoridad hará una evaluación del cumplimiento y si este es favorable, se permitirá reiniciar las actividades incluyendo un nuevo bloque de seguimiento (Autoridad Panameña de Seguridad de Alimentos/Manual de Muestreo, 2013; Autoridad Panameña de Seguridad de Alimentos, 2006).

2.10 MICROORGANISMOS PRESENTES EN ALIMENTOS

Las enfermedades transmitidas por los alimentos son generalmente de carácter infeccioso o tóxico y son causadas por bacterias, virus, parásitos o sustancias químicas que penetran en el organismo a través del agua o los alimentos contaminados (Organización Mundial de la Salud, 2018).

Diversos factores intrínsecos y extrínsecos influyen sobre el crecimiento microbiano en los alimentos. Los factores intrínsecos son aquellos que se relacionan con el alimento como pH, concentración y tipo de nutrientes, potencial redox, contenido de humedad, actividad de agua (A_w , por sus siglas en inglés), agentes antimicrobianos naturales, y la estructura física y biológica de los alimentos o nutrientes (Fisiología y Cinética Microbiana, 2018; Madigan, 2015).

Los factores extrínsecos son aquellos que se relacionan con el ambiente o entorno como la temperatura de almacenamiento, humedad relativa o del ambiente, presencia y concentración de gases (CO_2 , O_2), tipo, número y actividades de otros microorganismos en el alimento (Fisiología y Cinética Microbiana, 2018; Madigan, 2015).

La calidad microbiológica de los alimentos es fundamental porque influye en su conservación y vida de anaquel y, sobre todo, porque los microorganismos presentes en ellos, pueden ser causantes de enfermedades transmitidas por alimentos.

Los microorganismos indicadores son organismos (o grupos) que advierten oportunamente de un manejo inadecuado o contaminación, que incrementa el riesgo de presencia de microorganismos patógenos en alimentos. Permiten un enfoque de prevención de riesgos, porque advierten sobre un manejo inadecuado y/o contaminación (Codex Alimentarius/Criterios Microbiológicos, 2018).

Los principales microorganismos indicadores en alimentos son: mesófilos aerobios, hongos y levaduras, coliformes totales e indicadores de contaminación fecal: coliformes fecales, *E. coli* y enterobacterias (Madigan, 2015).

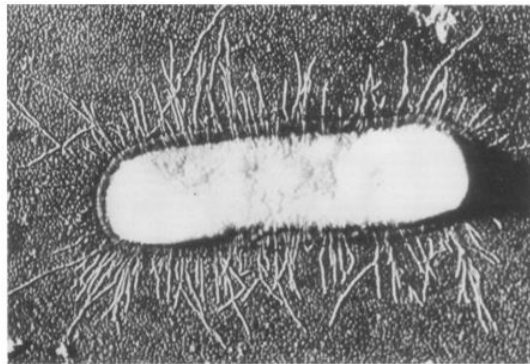
Los microorganismos patógenos en alimentos son aquellos que pueden causar enfermedades como: *Bacillus cereus*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella*, toxina de *Staphylococcus aureus*, *Campylobacter jejuni*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae*, y otros (Organización Mundial de la Salud, 2018; Madigan, 2015).

2.10.1 *Escherichia coli*

La *Escherichia coli* (*E. coli*) es un bacilo Gram negativo, anaerobio facultativo, que no forma esporas, móvil por la presencia de flagelos peritricos y miembro de la familia *Enterobacteriaceae*. Se considera una bacteria de la flora normal del intestino del ser humano y de animales de sangre caliente, que lo coloniza pocas horas después del nacimiento (Garrity, 2005; Rodríguez G. , 2002). Sin embargo,

existen cepas dentro de esta especie que son patógenas, que pueden causar enfermedades entéricas y extra intestinales en el hombre, ocasionando principalmente tres tipos de síntomas clínicos: infecciones del tracto urinario (UTI), sepsis o meningitis neonatal y enfermedades entéricas (diarrea y vómito), que en algunos casos pueden desarrollar el Síndrome Urémico Hemolítico (UHS, por sus siglas en inglés), (Zambrano A. , 2012; Nataro, 1998).

La bacteria *E. coli* se transmite a través del consumo de agua y alimentos contaminados, o de individuos infectadas por la ruta oro-fecal. Entre los alimentos de riesgo están las carnes de res mal cocidas, frutas y vegetales cultivados en áreas regadas con agua contaminada, productos lácteos y jugos no pasteurizados. Además, también puede transmitirse de una persona a otra si no se lavan las manos, o al tocar superficies o nadar en aguas contaminadas (FAO, 2012).



Fuente: Johnson, 1991.

Figura 2. *Microfotografía electrónica de la bacteria Escherichia coli.*

Fuente: (Johnson, 1991).

Los principales eventos genéticos que permiten a los organismos adaptarse y evolucionar son las mutaciones y la recombinación genética. La recombinación genética es el proceso mediante el cual los elementos genéticos presentes en el genoma de diferentes individuos se combinan, originando alguna nueva función que permita por ejemplo la adaptación a cambios en el medio ambiente (Betancor,

2008; Perna, 2001). Este proceso genera genomas bacterianos que consisten en mosaicos de genes con diferentes historias evolutivas (Perna, 2001).

Existen diversos modelos para explicar los mecanismos de evolución de los microorganismos, se ha propuesto que los distintos mecanismos de patogenicidad son el producto de la adquisición de genes de virulencia por transferencia horizontal (Muniesa., 2011). Según (Perna, 2001), los distintos clones patogénicos de *E. coli*, son producto de la adquisición constante de diferentes factores de virulencia, los cuales son codificados por genes presentes en plásmidos, islas de patogenicidad y en fagos.

Los serotipos de *E. coli* se clasifican en base a los antígenos somáticos y flagelares, denominados grupos O y antígenos H, respectivamente. Existen aproximadamente 180 antígenos somáticos (O1 a O185) y al menos 56 tipos de antígenos H. El antígeno H es importante para las cepas de *E. coli* diarrenogénicas. La determinación de estos antígenos se realiza por técnicas de aglutinación, utilizando antisueros específicos para evitar reacciones cruzadas (AESAN, 2012).

2.10.2 Grupos Filogenéticos de *Escherichia coli*

La *E. coli* se clasifica en cuatro grupos filogenéticos predominantes: A, B1, B2 y D, los cuales pueden ser divididos en siete subgrupos (A0, A1, B1, B2-2, B2-3, D1 y D2), (Clermont, 2000; Herzer, 1990). Los filogrupos fueron identificados por amplificación de dos genes con función conocida (*chuA* y *yjaA*) y un fragmento de ADN de función desconocida (*TspE4.C2*), (Clermont, 2000).

Las cepas de *E. coli* extraintestinales patógenas pertenecen en su mayoría a los grupos B2 y D, mientras las cepas comensales intestinales se distribuyen entre los grupos A y B1 (Soto, 2006; Picard, 1998).

2.10.3 Patotipos de *Escherichia coli*

En la actualidad, se han definido seis clases de tipos patógenos o patotipos de *E. coli* que causan enfermedad intestinal en los seres humanos, principalmente diarreas (Cortez, 2002). Estas cepas patógenas se han categorizado de acuerdo al efecto en el hospedero, interacción con la mucosa intestinal y la epidemiología asociada con la virulencia en el plásmido (Cortez, 2002). Algunos de estos patotipos comparten ciertas características. Sin embargo, cada patotipo tiene una única combinación de determinantes de virulencia que permiten mecanismos de patogenia bien diferenciados (Blanc, 2007).

Los Patotipos de *Escherichia coli* son: *Escherichia coli* enteropatogénica (ECEP), *Escherichia coli* enterohemorrágica (ECEH), *Escherichia coli* enterotoxigénica (ECET), *Escherichia coli* enteroinvasiva (ECEI), *Escherichia coli* enteroagregativa (ECEA), y *Escherichia coli* adherente difusa (ECAD), (Zambrano A. , 2012; Nataro, 1998).

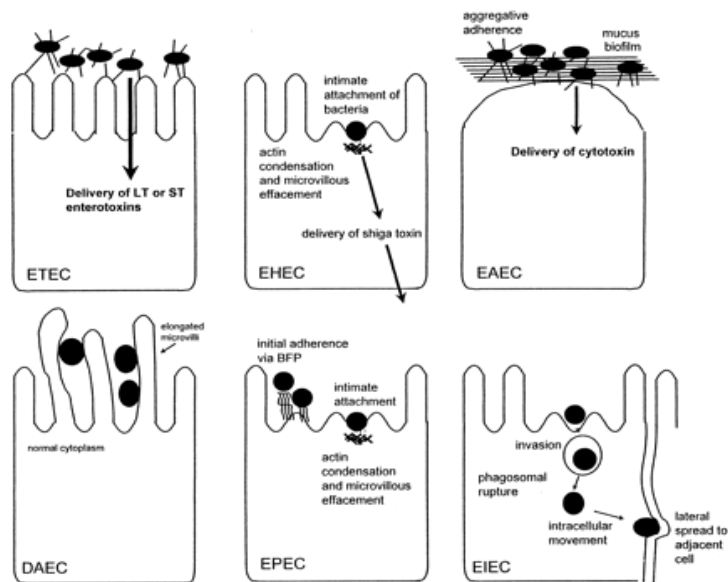


Figura 3. Esquema patogénico de *Escherichia coli* diarrenogénicas.

Fuente: (Nataro, 1998).

Tabla 2. Características de los grupos de *Escherichia coli* causantes de diarrea.

CARACTERÍSTICAS DE LOS GRUPOS DE *ESCHERICHIA COLI* CAUSANTES DE DIARREA

Grupo	Síntomas clínicos	Epidemiología	Serogrupos y serotipos más comunes	Factores de patogenicidad
ETEC	Diarrea aguda acuosa	Niños menores de dos años y diarrea del viajero	O8:H9, O15:H11, O20:H-, O25:H-O27:H7, O78:H12, O148:H28, O159:H20	ST y LT CFA
EHEC	SUH, CH, diarrea sin sangre, dolor abdominal, fiebre, vómito	Niños y adultos que la adquieren por comer carne cruda o mal cocida	O157:H7 O26:H11, O103:H2, O113:H21 O119, O128, O145	STX A/E Intimina pO157
EIEC	Diarrea con moco y sangre o diarrea acuosa, también se presenta cuadro disintérico	Niños menores de seis meses	O28:H, O112ac:H-, O144:H-, O152:H-, 164:H-O167:H-	Invasividad Plásmido de 140MDa
EPEC	Diarrea aguda, dolor abdominal, vómito, fiebre baja	Niños menores de seis meses hasta dos años	O55, O86, O142, O111:H- O127,	A/E, BFP Plásmido EAF de 50-70MDa
EAEC	Diarrea líquida, verde con moco, sin sangre, diarrea persistente hasta 20 días	Recién nacidos y niños menores de dos años	O44:H18	Fimbria AAFI y II EASTI Proteínas Pet y Pic OMP Plásmido de 60 MDa Citotoxina
DAEC	Diarrea acuosa sin sangre	Niños de 1 a 5 años	O126:H27	Fimbria F1845 OMP

LT= toxina termolábil
 ST= toxina termo estable
 CFA= factor de colonización antigénico
 BFP= pili con forma rizada

EAF= factor de adherencia de EPEC
 OMP= proteína de membrana externa
 STX= toxina shiga
 EAST= toxina ST de cepas enteroagregativas

Modificado de: Eslava C et al²

Fuente: (Rodríguez G. , 2002).

2.10.4 *E. coli* Enteropatógena (ECEP)

La ECEP fue el primer grupo que se identificó serológicamente y se asoció con casos de diarrea en niños pequeños. Su principal factor de patogenicidad es la adherencia. Esta adherencia se caracteriza por la unión íntima entre la bacteria y la membrana de las células del epitelio intestinal (enterocitos), seguida de la destrucción de la microvellosidad, y polimerización de actina que lleva a la alteración del citoesqueleto en el sitio donde se da la unión. Debido al incremento en los niveles de calcio intracelular y de la proteína quinasa C, se ha denominado

adherencia y esfacelamiento (A/E). La adherencia es mediada por pilis o fimbrias rizadas que se llaman Bfp (*bundle-forming pilus*), cuya información genética está codificada por un plásmido de 50-70 MDa denominado EAF (*adherence factor*) y de algunos genes cromosomales (Rodríguez G. , 2002). En la adherencia es necesaria la síntesis de una proteína de membrana externa de 94 kDa denominada intimina, codificada por el gen cromosomal *eae* y que sirve como señal en A/E (Nataro, 1998).

Para que una cepa se clasifique como ECEP debe causar lesión de adhesión y borrado (*A/E-attaching and effacing*) de las microvellosidades de los enterocitos (Margall, Dominguez, Prats, & Salleras, 1997), producir verotoxinas (VT), y no tener capacidad invasiva *in vivo* (Levine, 1987).

Las cepas de ECEP se consideran típicas cuando tienen los genes *eae* que codifican para la síntesis de la proteína intimina, que participa en la A/E, y el plásmido EAF que codifica para el Bfp. Se consideran atípicas cuando sólo presentan los genes *eae* pero no el plásmido EAF (Rodríguez G. , 2002).

La ECEP puede ocasionar brotes o casos aislados de diarrea. Este grupo afecta principalmente a niños entre seis meses y dos años de edad. También, puede aislarse en adultos enfermos y sanos, principalmente cuando hay un factor de predisposición como la diabetes. En el hombre ocasiona una diarrea líquida con mucosidad acompañada de vómitos y fiebre. La forma de transmisión de la infección es oro-fecal a través de las manos, agua y alimentos contaminados. Una forma común de transmisión son las manos contaminadas de manipuladores de alimentos. La contaminación de los alimentos puede ocurrir durante el proceso de faenado de los animales que son reservorios de la bacteria. Los reservorios de ECEP pueden ser niños y adultos con o sin síntomas, y es frecuente en los países desarrollados y en vías de desarrollo (Rodríguez G. , 2002).

El cuadro clínico que produce la ECEP se manifiesta con diarrea aguda, la cual puede ser leve o grave, con vómito, fiebre baja y mala absorción. El diagnóstico de EPEC incluye ensayos *in vitro* en cultivos celulares y métodos moleculares, adherencia localizada en células Hep-2 y HeLa, plásmido EAF, hibridación (EAF, Bfp) y PCR (EAF, Bfp), (Rodríguez G. , 2002).

2.10.5 *E. coli* Enterohemorrágica (ECEH)

Las cepas de ECEH, además de producir histopatología AE (*attaching and effacing*), sintetizan una potente citotoxina (toxina Shiga). El serotipo más predominante es la *E. coli* O157:H7. Además, se conocen más de 200 serotipos o serovariedades de *E. coli* productoras de toxina Shiga (STEC), aunque la mayoría no son patógenas y no contienen otros factores de virulencia (Nataro, 1998).

De todos los serotipos de ECEH, la *E. coli* O157:H7 es la que produce patología con más frecuencia. Los principales factores de virulencia son: las verotoxinas VT1 y VT2 (por lo que también se denominan VTEC), la fimbria plasmídica (CDV 419), y la síntesis de la proteína intimina codificada por el gen *eae*. La verotoxina VT1 es casi idéntica a la toxina de *Shigella dysenteriae* tipo 1. El reservorio más importante de la *E. coli* O157:H7 es el ganado bovino, aunque parece que estas cepas no producen patología en los animales (Crespo, 1998). Los rumiantes pueden actuar como portadores asintomáticos de cepas de VTEC potencialmente patógenas para el hombre (Cortes, 2007). Se han aislado VTEC en otras especies animales como el ganado porcino, gatos y perros, pero la frecuencia de aislamiento es menor que en rumiantes (Beutin, 1993).

Las cepas ECEH no-O157 (O26, O11, O12, O45, O111 y O 145), no tienen una característica bioquímica que las diferencie del resto de cepas de *E. coli*. La O157:H7 no fermenta sorbitol y no posee actividad β -glucoronidasa (Rivas, 2007).

Las ECEH son altamente infecciosas para los seres humanos, se ha estimado que para el patotipo O157:H7 menos de 100 células son suficientes para desarrollar una infección (Guth, 2008; Caprioli, 2005). La forma de transmisión de la infección es oro-fecal a través del consumo de alimentos o agua contaminada, o por contacto próximo de persona a persona (Guth, 2008). La carne bovina, especialmente las hamburguesas, es el alimento asociado con más frecuencia a brotes. Sin embargo, se ha detectado en otros alimentos como carne de pavo, salami, leche, yogur, mayonesa, ensaladas, vegetales crudos, y zumos de frutas (Crespo, 1998). Las manifestaciones clínicas tienen un amplio espectro, que va desde cuadros asintomáticos hasta síntomas como colitis hemorrágica (CH), síndrome hemolítico urémico (SHU), apendicitis y anomalías neurológicas (Caprioli, 2005).

2.10.6 *E. coli* Enterotoxigénica (ECET)

La ECET en conjunto con la ECEP son los responsables de la diarrea del viajero o de origen alimentario por alimentos importados, muy frecuente en países en vía de desarrollo (Villa, 2013). Se adhiere a la mucosa del intestino delgado (no la invade), luego se produce la liberación de dos enterotoxinas (enterotoxina termolábil LT y termoestable ST), codificadas por los genes LT1 y ST1, responsables del cuadro clínico (Rebello, 2012; Margall N. D., 1997). En el hombre se produce una diarrea líquida profusa, sin sangre, ni material purulento, y con ausencia de fiebre (Margall N. D., 1997). Las fimbrias responsables de la adhesión de las ECET son específicas del hospedero, por lo que las cepas que causan

diarrea en humanos son diferentes a las aisladas en animales (Margall N. D., 1997).

La ECET es uno de los patotipos más estudiados, asociado con morbilidad en niños menores de 5 años y en adultos, puede ser asintomática, poco frecuente o puede provocar la denominada diarrea del viajero (Rodríguez, 2002). Es la principal causa de diarrea en turistas de países desarrollados y en recién nacidos. No produce cambios histológicos aparentes, más que una ligera inflamación que suele ir acompañada de náuseas (Blanc, 2007).

Las ECET son importantes en lactantes, principalmente en niños menores de dos años y en particular, durante los primeros seis meses de vida. La frecuencia de aislamiento de este grupo patógeno de *E. coli* en niños con diarrea es de 10 a 30% (Rodríguez G. , 2002).

El cuadro clínico se caracteriza por diarrea aguda, generalmente sin sangre, sin moco, sin pus y en pocos casos, se presenta fiebre y vómito. La diarrea producida por ECET puede ser leve, breve y autolimitada, pero también, puede ser grave. La contaminación fecal de agua y alimentos, es la principal fuente de infección, siendo la dosis infectiva de 10⁸ unidades formadoras de colonias (UFC) en un corto periodo de incubación (14-50 h) (Rebello, 2012; Rodríguez G. , 2002).

La ECET se asocia generalmente con dos síndromes: el síndrome de diarrea del niño destetado, en los niños de países en desarrollo; y el síndrome de diarrea del viajero (Koneman, 2008). En los países en desarrollo, se estima que ocurren 650 millones de casos de infección por ECET por año, que resultan en aproximadamente 800,000 muertes, donde la mayoría son niños (Organización Mundial de la Salud, 2018).

2.10.7 *E. coli* Enteroinvasiva (ECEI)

La ECEI está relacionada genética y bioquímicamente con *Shigella* spp. Taxonómicamente son indistinguibles a nivel de especies (Kaper, 2004; Rodríguez G. , 2002). Ambos microorganismos tienen la capacidad de depender de plásmidos para evadir y replicarse en el interior de las células epiteliales del intestino. ECEI es mucho más frecuente que la disentería. Estructuralmente, la secuencia de aminoácidos de ECEI es idéntica a la *Shigella* spp. Sin embargo, esta última no produce toxina Shiga (Rodríguez G. , 2002).

ECEI se caracteriza por causar diarrea y disentería, debido a un complicado mecanismo de patogenia que comienza con la invasión de las células epiteliales, lisis de la vacuola, y penetración del epitelio del colon. Luego, se adhiere a la mucosa requiriendo de dos proteínas, mucinasas y adhesinas, para entrar por endocitosis a la célula, replicarse dentro de ella y posteriormente, diseminarse y expandirse a las células sanas adyacentes, provocando una fuerte reacción de inflamación y ulceración (Blanc, 2007; Rodríguez G. , 2002; Nataro, 1998).

La invasión y supervivencia de tipo patógeno depende de los genes contenidos en el plásmido *pinv*, que contiene todos los genes responsables de la invasión. Por lo que la pérdida de este plásmido, tiene como consecuencia cepas de ECEI no virulentas (Rebello, 2012).

Se asocia fundamentalmente con brotes de origen alimentario por alimentos importados (Margall N. D., 1997), siendo responsables de la diarrea del viajero. El mecanismo de patogenicidad de la ECEI es la invasión del epitelio del colon, sin producción de toxinas LT y ST, dando lugar a una diarrea disenteriforme acuosa

que se manifiesta con sangre y mucosidad en heces acompañada de fiebre y dolor abdominal (Todar, 2008). En algunos casos sólo se produce diarrea, siendo difícil diferenciarla de la producida por ECET (Rodríguez G. , 2002).

Las infecciones intestinales causadas por ECEI, son más frecuentes en niños mayores de dos años y en adultos. La transmisión de este enteropatógeno se da por la ingesta de alimentos y agua contaminada (Madigan, 2015). La infección puede manifestarse en forma de diarrea acuosa indistinguible de la causada por ECET. En algunas personas, se observa la evolución del cuadro de disentería, que se caracteriza por fiebre y colitis. Los síntomas de la infección de este tipo patógeno son de urgencia, y presentan heces que contienen sangre, moco y leucocitos (Koneman, 2008).

2.10.8 *E. coli* Enteroagregativa (ECEA)

La ECEA se caracteriza por su patrón de agregación y adherencia a las células epiteliales, y por la producción de la toxina EAST-1 (Blanc, 2007). Se considera un patógeno intestinal emergente, responsable de causar diarrea persistente y desnutrición en niños y en personas infectadas por VIH, en países en desarrollo. También, es reconocida como la segunda causa de diarrea del viajero, en los países desarrollados y en vías de desarrollo (Croxen, 2010; Huang, 2006).

La patogenia de cepas de ECEA es compleja y los componentes de este grupo son extremadamente heterogéneos. A pesar de esto, se ha propuesto un modelo de tres etapas de su patogenia. En la primera etapa de la infección, las bacterias se adhieren a la mucosa intestinal y a la capa de moco por las fimbrias de agregación de adherencia (AAF) y factores de adhesión. En la segunda etapa, las bacterias continúan multiplicándose en la capa de moco, estimulan su hipersecreción y la formación de un *biofilm* bacteriano. Por último, la tercera etapa

se caracteriza por la producción de toxinas y el desarrollo de un proceso inflamatorio que produce un daño en la mucosa intestinal. El daño causado a las microvellosidades y la presencia de *biofilms* bacteriano, generan una mala absorción de los líquidos y solutos que desencadenan diarrea (Elias, 2008; Huang, 2006). La diarrea causada por la ECEA es típicamente acuosa, pero puede en algunos casos también contener sangre o moco (Croxen, 2010).

El sitio blanco de daño de la ECEA puede ser la mucosa del intestino grueso y delgado, con un periodo de incubación de menos de ocho horas y puede durar de 18 a 20 días. Esta bacteria puede causar brotes o casos aislados de diarrea persistente. En niños puede manifestarse con diarrea líquida, de color verde, con moco, sin sangre, y en ocasiones, puede llegar a ser severa y requerir rehidratación intravenosa. Algunas veces, el cuadro clínico se presenta como diarrea con moco con o sin sangre, vómito y sin o con poca fiebre (Nataro, 1998).

2.10.9 *E. coli* Adherente Difusa (ECAD)

Se conoce poco sobre su mecanismo de patogenicidad, pero se ha caracterizado una fimbria de superficie conocida como F1845, que está involucrada en el fenómeno de adherencia difusa. Los genes que codifican para esta fimbria, se pueden encontrar en el cromosoma o en un plásmido. El grupo de ECAD, se puede aislar tanto de personas sanas como de personas con diarrea, siendo más importante en niños de 4 a 5 años. Los principales síntomas que se presentan son diarrea acuosa sin sangre y sin leucocitos (Rodríguez G. , 2002).

Los mecanismos de patogenicidad de este sexto grupo de las *E. coli* diarrenogénicas están actualmente en investigación.

2.11 RESISTENCIA ANTIMICROBIANA

La resistencia antimicrobiana puede definirse como la capacidad de una bacteria para resistir a los efectos causados por un antibiótico. La resistencia se adquiere de manera natural por medio de mutaciones al azar o puede inducirse artificialmente por medio de presión selectiva en una población (Mosquito, 2011; Zambrano J. L., 2002).

La resistencia a antibióticos ha pasado de ser un problema individual a uno de salud pública (Organización Mundial de la Salud., 2012), debido a las altas tasas de morbilidad y mortalidad, que tienen un impacto social y económico en los países por su alto costo en tratamientos y hospitalizaciones (García Hernández, 2011; Mosquito, 2011). Se ha demostrado en algunos estudios que los aislamientos que se obtienen de muestras clínicas o ambientales, presentan resistencia a los antibióticos que se utilizan con mayor frecuencia, entre estos la ampicilina, tetraciclina, cloramfenicol, ácido nalidíxico, entre otros (Al-Bahry, 2013; Kaesbohrer, 2012; Ríos, 2012).

Los antibióticos ayudan a la prevención y control de enfermedades, pero también influyen en el rápido crecimiento de los animales, abaratando los costos en el mercado para lograr un mejor precio al consumidor (Santamaría, 2011). El uso inadecuado y prolongado en los tratamientos de salud pública, en medicina veterinaria, en la agricultura, y la falta de seguridad en el tratamiento de los desechos de la industria farmacéutica, han influido en la presión selectiva natural de las bacterias, permitiendo la adquisición de genes de resistencia a los antibióticos (Al-Bahry, 2013; Wasyl, 2013).

Diversos estudios han demostrado que la resistencia a antibióticos en bacterias puede ser causada por la transferencia de determinantes genéticos entre

animales, de animales a humanos, en el ambiente, y en la cadena alimentaria (Al-Bahry, 2013; de Jong, 2012; Costa, 2008). Genes de resistencia se han detectado en heces humanas, de animales salvajes, en animales criados en granjas domésticas e industriales, incluyendo productos alimenticios cárnicos y sus derivados que se obtienen de animales de granjas, en sedimentos y aguas subterráneas o superficiales (Koo, 2011; Santamaría, 2011; Anderson, 2006).

Las enterobacterias tienen un gran impacto en la salud mundial. En Europa se realizan programas de monitoreo zoonótico para contrarrestar los problemas de enfermedades por consumo de carne contaminada con genes de resistencia (Wasył, 2013; de Jong, 2012), y se realizan investigaciones a nivel internacional para estudiar la resistencia antimicrobiana desarrollada por *E. coli* (Organización Mundial de la Salud, 2001).

Los antimicrobianos son medicamentos esenciales para la salud humana y la salud animal. Sin embargo, la aparición, desarrollo y propagación constante de agentes patógenos resistentes a los antimicrobianos son un motivo de creciente preocupación en todo el mundo. La OMS elabora y promueve directrices para reducir al mínimo los efectos en la salud pública de la resistencia a los antimicrobianos asociada a su uso en los productos alimentarios de origen animal (Organización Mundial de la Salud, 2001; Organización Mundial de la Salud, 2000).

El abuso y el uso indebido de antibióticos en animales y humanos están contribuyendo al aumento de la amenaza que representa la resistencia a los antimicrobianos. Algunos tipos de bacterias causantes de infecciones humanas graves ya son resistentes a la mayoría o a la totalidad de los tratamientos disponibles, y hay muy pocas alternativas prometedoras en fase de investigación (Organización Mundial de la Salud, 2018).

La OMS ha estimado que, si no se toman las medidas respectivas, para el año 2050 la totalidad de los antibióticos serán ineficaces para prevenir y tratar enfermedades humanas. Las pruebas científicas demuestran claramente que el uso excesivo de los antibióticos en los animales puede contribuir a la aparición de resistencia a estos fármacos (Organización Mundial de la Salud, 2018; Organización Mundial de la Salud., 2012).

En este sentido la OMS ha elaborado directrices que los países deberán cumplir, para contribuir a preservar la eficacia de los antibióticos de importancia para la medicina humana mediante la reducción de su uso innecesario en los animales. Estas recomendaciones incluyen el uso de los antibióticos en los animales con diferentes fines, como la estimulación del crecimiento, la profilaxis en ausencia de enfermedad o el tratamiento y el control de enfermedades ya diagnosticadas (Organización Mundial de la Salud, 2018).

2.12 NUEVAS METODOLOGÍAS PARA LA DETECCIÓN DE MICROORGANISMOS PATÓGENOS

En la actualidad gracias a la generación de nuevo conocimiento y desarrollo de tecnología de punta (como la detección molecular de patógenos en alimentos, bioinformática, secuenciación masiva, entre otros), y de nuevos procesos relacionados con la industria alimentaria. Ha permitido la constante vigilancia, monitoreo, rastreabilidad/trazabilidad y reducción de enfermedades transmitidas por los alimentos, a través de las diversas agencias internacionales dedicadas a la inocuidad de los alimentos.

Las técnicas de biología molecular para la detección rápida y directa de ácidos nucleicos de diferentes microorganismos patógenos, son muy útiles en el diagnóstico de las enfermedades infecciosas y se hacen necesarias en la actualidad para los estudios de zoonosis, estudios a nivel de filogenia e identificación de patógenos emergentes y re-emergentes (Malttar, 2005). Con estos avances es posible hacer diferencias entre cepas bacterianas, y realizar estudios precisos y detallados que permitan realizar controles epidemiológicos (Malttar, 2005).

La comparación de cepas para establecer su identidad, se basa en el hecho de que cepas relacionadas epidemiológicamente provienen de la expansión clonal a partir de un precursor o progenitor único. Existen numerosos trabajos en donde se aplican estas metodologías para el estudio de zoonosis. Las infecciones producidas por *E. coli* 0157:H7 y STEC, la salmonelosis, brucelosis, rickettsiosis, entre otras, son algunos de los trabajos que se han realizado (Malttar, 2005).

En la actualidad existen diferentes métodos moleculares que se utilizan para la detección de patógenos microbiológicos en alimentos y agua. Entre estas técnicas podemos mencionar (Malttar, 2005).

2.12.1 Técnicas basadas en PCR

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es un método enzimático *in vitro* para amplificar secuencias específicas de ADN de microorganismo de interés, desarrollado por *Kary Mullis* en 1985 (Mullis, 1987). Es sin lugar a dudas, la técnica más importante y revolucionaria en biología molecular hasta la actualidad. Es la técnica más utilizada para la detección de microorganismos, se caracteriza principalmente por realizar millones de copias de un segmento de ADN específico de un microorganismo (Rodríguez R. A., 2009).

La PCR tiene diferentes modalidades como la PCR anidada, semi-anidada, multiplex, la RT-PCR (amplificación de organismos con genoma de ARN), entre otras. La PCR en tiempo real, permite cuantificar el número de moléculas de ADN del microorganismo presente en la muestra, sin necesidad de utilizar geles de agarosa finalizada la reacción (Rodríguez R. A., 2009).

2.12.2 Microarreglos (Microchips)

Consiste en un arreglo ordenado de cientos o miles de secuencias de ADN (oligonucleótidos, ADNc, y otros), depositados sobre una superficie sólida para la detección de microorganismos (Rodríguez R. A., 2009).

2.12.3 Análisis de Microorganismos por RFLPs

El polimorfismo de largo de fragmentos de restricción (RFLP, por sus siglas en inglés), permite el análisis de una zona de interés del genoma en lugar de estudiar todo el cromosoma. La región de interés se corta con enzimas específicas denominadas endonucleasas de restricción. Estas cortan el ADN en regiones específicas, los fragmentos generados son separados por electroforesis en gel de agarosa y posteriormente, se transfieren a una membrana de nylon o nitrocelulosa, que se somete a hibridación con una sonda marcada complementaria al fragmento analizado, cuyo polimorfismo se quiere estudiar (Ruiz, 2005). El número de bandas presentes dependerá del número de copias de secuencias existentes en el genoma, mientras que su polimorfismo estará relacionado con su distribución a lo largo del genoma, así como, con variaciones en los sitios de restricción dentro de la secuencia y en regiones más próximas (Pérez De Rosas, 2003).

2.12.4 Ribotipificación

La ribotipificación consiste en someter a hibridación el ADN genómico de una bacteria que se ha digerido previamente con una enzima de restricción, luego se transfiere a una membrana de nitrocelulosa, y posteriormente se hibrida con una sonda que es complementaria a la secuencia de ADN de los genes del ARNr (Malttar, 2005).

2.12.5 RAPD

Esta técnica se basa en la amplificación del genoma de ADN utilizando *primers*, *cebadores* o iniciadores sencillos sobre una secuencia de nucleótidos al azar. Estos iniciadores producen una amplificación al azar de uno o más *locus* (posición en un cromosoma, que determina la posición de un gen o de un marcador genético) impredecibles. La técnica de RAPD ha sido usada exitosamente en cepas de *E. coli* O157:H7, y ha permitido diferenciar y relacionar cepas aisladas de brotes, así como, cepas provenientes de animales para demostrar zoonosis (Narváez, 2000).

2.12.6 Metagenómica o Genómica Ambiental

La genómica ambiental es el análisis genómico de poblaciones de microorganismos, que se puede definir como el análisis del ADN total de una muestra ambiental. Hasta el momento, se han investigado metagenomas de diversos ambientes, incluyendo ecosistemas acuáticos, minas, suelos agrícolas y forestales, entre otros, lo cual permite determinar la diversidad microbiana y filogenética, diversidad metabólica y expresión génica en distintas poblaciones, permitiendo hacer una reconstrucción total o parcial de los genomas de microorganismos no cultivados (Hernández-León, 2010).

2.12.7 Electroforesis Capilar

La electroforesis capilar es una técnica de separación basada en la diferente velocidad de migración de las distintas especies cargadas bajo la acción de un campo eléctrico. La separación se lleva a cabo en un capilar de sílice fundida de diámetro muy pequeño (10-200 μm). El uso de estos capilares tiene múltiples ventajas: a) los capilares son anticonvectivos en sí mismos, por lo tanto, no es necesaria la utilización de un gel soporte como medio; b) el calor generado al pasar la corriente eléctrica (efecto Joule), que daría lugar a problemas de gradientes de temperatura no uniformes (cambios locales de viscosidad), es fuertemente reducido, ya que la disipación de calor es muy efectiva; c) pueden aplicarse altos voltajes consiguiéndose una reducción del tiempo de análisis y altas eficiencias (Osatinsky, 2007).

2.12.8 Electroforesis de Campo Pulsado

La electroforesis de campo pulsado (PFGE), consiste en separar y calcular el tamaño de moléculas grandes de ADN, tiene relevancia para análisis comparativos de patrones de restricción cromosómicos, construcción de mapas cromosómicos, topología y tamaño de cromosomas, y análisis de elementos extra cromosómicos de peso molecular alto (Cardozo, 2013).

Esta técnica se fundamenta en la separación de ADN de 10 kb hasta 10 Mb (Schwartz, 1984). En este método, el ADN viaja a través de un gel de agarosa concentrado, bajo la influencia de dos campos eléctricos. Cuanto más grande sea la molécula de ADN, mayor será el tiempo para encontrar nueva orientación y la retención en el gel (Southern, 1987).

Dentro de las aplicaciones a nivel molecular que tiene esta técnica se encuentra, la determinación de patrones de restricción cromosómicos y análisis comparativo, ADN *fingerprinting* (huella génica) mediante estudio de perfiles de digestión usando enzimas de secuencias de reconocimiento largas (infrecuentes a lo largo del genoma). También, tiene amplia aplicación como técnica de referencia para análisis filogenético, análisis del ADN mitocondrial y comparación de ARN 16S. Además, se utiliza para mapas genéticos y físicos, topología cromosómica, combinando patrones de restricción y técnicas de hibridación, para elaborar bases de datos de mapas cromosómicos y determinar el tamaño exacto de los cromosomas (Cardozo, 2013).

Actualmente, la PFGE es una técnica muy utilizada por la Administración de Alimentos y Drogas de Estados Unidos (FDA, por sus siglas en inglés), para realizar las investigaciones epidemiológicas de patógenos en alimentos relacionados con alertas sanitarias y retiros. Esta herramienta permite determinar la relación de un patógeno con un brote e inferir donde posiblemente se originó.

2.12.9 Cuantificación de ADN en Geles de Agarosa

La electroforesis en gel de agarosa es un método normalizado que se utiliza para separar, identificar y purificar fragmentos de ADN. Se trata de una técnica sencilla y rápida, que permite diferenciar fragmentos de ADN que no pueden separarse adecuadamente con otros procedimientos. Por otra parte, el ADN puede localizarse en el gel tiñendo con una concentración baja de un colorante fluorescente como el bromuro de etidio, que es un agente que se intercala en el ADN y que emite fluorescencia en presencia de luz ultravioleta (UV) (Sambrook J. D., 2001).

La técnica para la cuantificación de ADN, consiste en la utilización de una escalera o marcador de peso molecular con concentraciones determinadas de ADN, que se comparan con muestras de ADN de concentración desconocida. El cálculo de las concentraciones se hace bajo la luz ultravioleta según la intensidad de la fluorescencia. Debe evitarse la exposición prolongada a la luz ultravioleta, incluso con máscara de protección. La estimación de las concentraciones de ADN puede realizarse sobre una fotografía digital del gel tomada bajo luz ultravioleta, si se cuenta con un analizador de imágenes (Sambrook J. F., 1989).

2.12.10 Electroforesis de ADN en Gel de Agarosa

Esta técnica se emplea frecuentemente para la visualización del ADN extraído de diversos orígenes. Se basa en la migración que realiza el ADN cargado negativamente hacia un polo positivo al encontrarse dentro de un campo eléctrico a pH neutro. La técnica se realiza en una cubeta horizontal y los geles se fotografían con un digitalizador de imágenes (Sambrook J. F., 1989).

2.12.11 Secuenciación Masiva

Una de las técnicas más modernas es la secuenciación masiva o de nueva generación, que consiste en identificar comunidades enteras de microorganismos (microbiomas) que contiene una muestra clínica o ambiental (Rodríguez R. A., 2009).

3. MARCO METODOLÓGICO

La acción a realizar, consistió en el desarrollo de una metodología molecular para la detección de *Escherichia coli* productora de toxina Shiga (STEC) en productos cárnicos de origen bovino, porcino y aviar, importados en la República de Panamá, con el fin de determinar no conformidades por resultados de laboratorio positivos. Esta metodología se realizó en el Laboratorio de Análisis de Alimentos de la Autoridad Panameña de Seguridad de Alimentos, a través del plan de muestreo para monitoreo y vigilancia de productos cárnicos importados, para determinar que los países que importan productos cárnicos al país, cumplen efectivamente con los requisitos sanitarios de Panamá respecto a la adecuada implementación de sistemas de producción inocuos y de calidad.

Cada trimestre se revisó el plan de muestreo para monitoreo y vigilancia de productos cárnicos importados, para verificar que se incluyeran los nuevos países aprobados para elegibilidad de país o las nuevas plantas aprobadas para países con autorización previa para importar a Panamá. La metodología utilizada se basó en el Sistema de Notificación de Importación de Alimentos (SISNIA) de la AUPSA, que es un sistema digital matemático de números aleatorios que asignó al azar muestreo microbiológico a las notificaciones de productos cárnicos de origen bovino, porcino y aviar, que se importaron a Panamá por un período de 1 año. La selección de la notificación de importación por el SISNIA se basó en el historial de importación y en las cantidades notificadas para ingresar por mes a Panamá. Se seleccionaron al azar 10 muestras de cada uno de los siguientes productos cárnicos: filetes de carne bovina sin hueso, carne bovina con hueso, carne bovina picada mecánicamente, canales de cerdo, costillas de cerdo, carcasas, pollo picado, y pasta de pollo.

Luego, que el SISNIA asignó muestreo a una notificación, se procedió a su revisión para verificar que se cumplimentó toda la información del producto importado, la planta de procesamiento, país de origen, e información del importador y exportador. Posteriormente, en el punto de ingreso por donde entró la carga, un médico veterinario verificó que el producto cárnico importado cumplió con toda la documentación requerida para el ingreso al país (certificado de libre venta del país de origen, certificado sanitario, notificación completa en el SISNIA, y el manifiesto de carga). Luego, el médico veterinario realizó una inspección visual que consistió en verificar en el recinto o bodega las condiciones físicas del interior del contenedor y la temperatura de la carga, seguido de la verificación física de los productos (descripción del producto, embalaje, etiquetado, lote, y planta de procesamiento). Posteriormente, se llenó, firmó y selló los formularios de los Formatos de Acta de Toma de Muestra y Orden de Análisis (ver Anexo). Seguido, se tomaron las muestras (una caja por cada producto muestreado, que tiene aproximadamente un peso de entre 25 a 50 kg de producto), las muestras se guardaron en bolsas de plásticos estériles, se cerraron con sellos de seguridad y se identificaron con el número de notificación correspondiente. Se colocaron en hieleras limpias con refrigerante y se enviaron al laboratorio para su análisis (Figura 4).

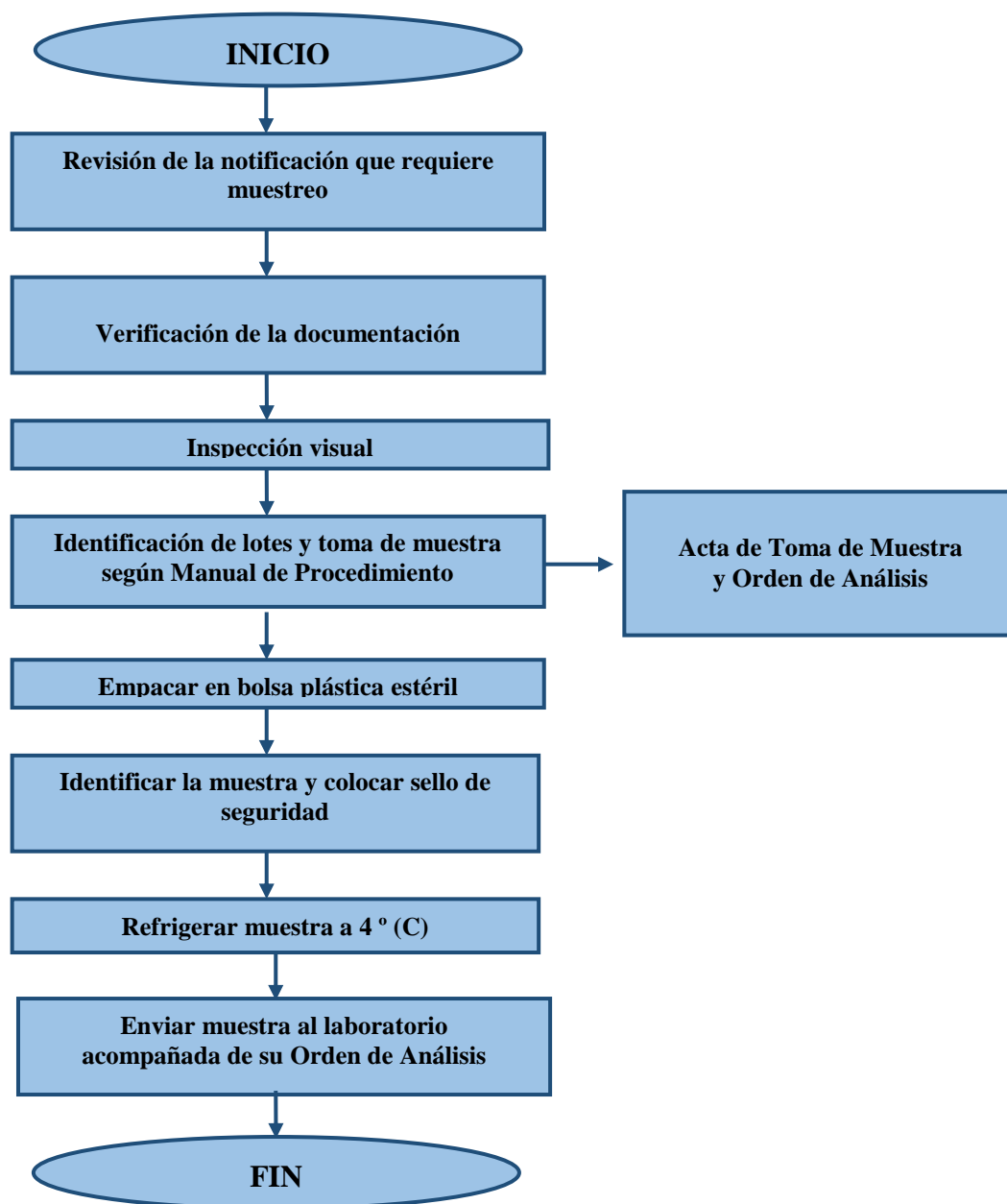


Figura 4. Flujograma de procedimiento para toma y envío de muestra al laboratorio.

Fuente: (Autoridad Panameña de Seguridad de Alimentos/Manual de Muestreo, 2013).

Este proyecto de investigación incluyó los siguientes manuales para la detección, aislamiento e identificación de *Escherichia coli* (STEC), (Figura 5):

1. Manual de procesamiento de muestras y de pre-enriquecimiento para: filetes de carne bovina sin hueso, carne bovina con hueso, carne bovina picada mecánicamente, canales de cerdo, costillas de cerdo, carcasas, pollo picado, y pasta de pollo.

Se utilizó una técnica aséptica para el manejo y procesamiento de cada una de las muestras. Las muestras de los productos cárnicos congelados se atemperaron colocándolas sobre una bandeja de acero inoxidable estéril dentro de la cabina de flujo laminar por un período de 30 minutos a 1 hora, para luego tomar una porción analítica representativa de la muestra. Alternativamente, las muestras se podían colocar en refrigeración de 2 a 5°C por 18 horas o para un descongelado rápido a 45°C por no más de 15 min. Posteriormente, se cortó, pesó y manipuló de manera aséptica usando utensilios estériles 25 g de superficie de producto. Se abrieron bolsas estériles que contenían 225 ml de medio de cultivo de pre-enriquecimiento triptona soya modificado (mTSB), se agregó la muestra, se cerró la bolsa y se masajearon o colocaron en un homogeneizador por 2 minutos. Este proceso permitió la liberación de las bacterias de la superficie del alimento. Luego, se incubaron las muestras sin agitación por 15 a 24 h a 42°C. Se incluyeron los controles: positivos (cepa de *Escherichia coli* comercial), y negativo (medio de cultivo sin inocular).

2. Metodología para la detección molecular por tiempo real (Real Time-PCR) de *Escherichia coli* productora de toxina Shiga (STEC), incluyendo ECEH O157:H7 y no O157 (O26, O11, O12, O45; O111 y O145), mediante la utilización de cebadores específicos para los genes (*Stx1*, *Stx2* y *eae*).

Se utilizó el sistema de amplificación molecular por PCR en Tiempo Real del *Bax*[®] Systems, y se siguieron las instrucciones del fabricante. Luego de la incubación, se tomaron 20 µl de cada una de las muestras enriquecidas y se colocaron en microtubos que contenían el reactivo de lisis celular. Posteriormente, se procedió a centrifugar y se transfirió con una micropipeta el sobrenadante a microtubos limpios que contenían los reactivos de amplificación. Se realizó el ciclaje o amplificación siguiendo las especificaciones de la casa comercial, y luego se evaluaron los resultados con el *software* del equipo.

3. Manual de procedimiento para la preparación de medios selectivos y diferenciales para el aislamiento y confirmación de *Escherichia coli*. Aplicado solo para muestras con resultado positivo por Real Time-PCR.

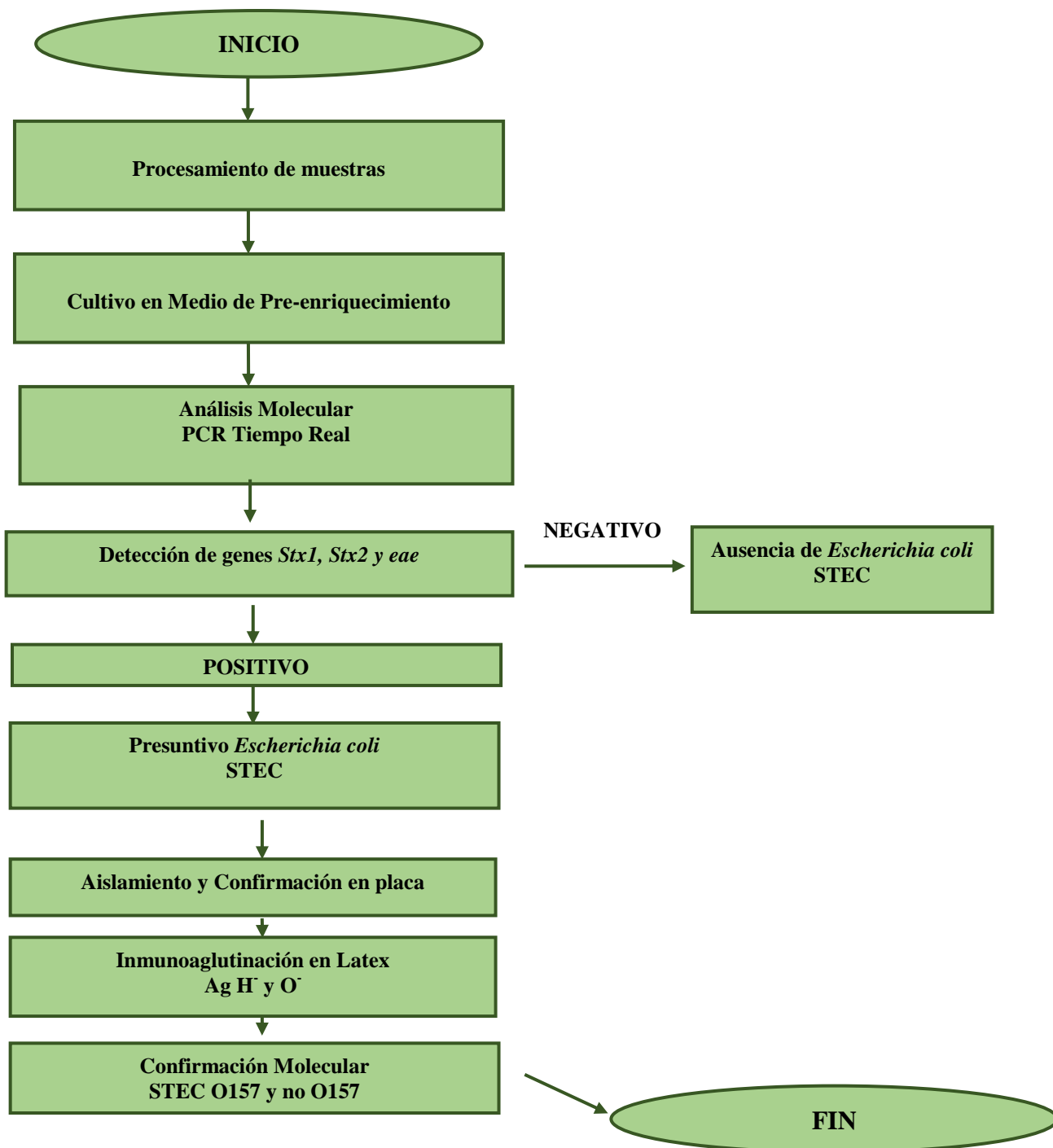
La preparación de medios selectivos y diferenciales para *Escherichia coli* se realizó utilizando la Guía de Laboratorio de Microbiología del USDA/FSIS (Laboratory Guidebook, USDA/FSIS, 2015), la cuál se basó en la utilización de distintos medios de cultivo cromogénicos para la identificación bacteriana (ver Anexo 6).

4. Manual de procedimiento para inmuno-aglutinación en latex para el antígeno flagelar H y somático O.

Se realizó utilizando el kit REMEL RIM[®] de aglutinación en latex siguiendo las instrucciones del fabricante, que se basa en una reacción antígeno anticuerpo para la identificación de los antígenos flagelares y somáticos de *Escherichia coli*.

6. Protocolo de bioseguridad para laboratorio de nivel de seguridad 2 (BSL-2) y de descarte de muestras.

7. Flujoograma sintetizado del procedimiento de muestreo y análisis.

**Figura 5.** Flujoograma de procedimiento para detección molecular de *E. coli* STEC.

Fuente: (Autoridad Panameña de Seguridad de Alimentos/Manual de Laboratorio, 2018).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los cambios más significativos que se han dado a nivel de la salud pública en las dos últimas décadas, han surgido principalmente, de la aplicación de las técnicas moleculares del ADN, que han permitido dilucidar y abordar una gran variedad de problemas que afectan directamente a nuestra calidad de vida en aspectos como la salud, la alimentación y el medio ambiente. Esto ha permitido grandes avances en el descubrimiento y aplicación de nuevos fármacos, mejoramiento en procesos de la industria alimentaria y la agricultura, la diferenciación a nivel genético de microorganismos patógenos que con las técnicas tradicionales de cultivo era imposible detectar, porque algunos inclusive no son cultivables por los métodos tradicionales.

La bacteria *Escherichia coli* productora de toxina Shiga (STEC), es un patógeno emergente asociado a casos de diarrea, colitis hemorrágica, y síndrome urémico hemolítico en los seres humanos (Zambrano A. , 2012; Nataro, 1998). Los rumiantes en general y el ganado vacuno en particular, se consideran los principales reservorios de STEC (Garrity, 2005; Rodríguez G. , 2002). La contaminación de la canal durante el sacrificio es la ruta primaria de contaminación de la carne. Los principales mecanismos de transmisión son la ruta oro-fecal, el consumo de carne mal cocida o cruda, alimentos y agua contaminados, leche y jugos no pasteurizados, la contaminación cruzada durante la preparación de alimentos, y otros (FAO, 2012).

La primera vez que ECEH O157:H7 se detectó como patógeno humano fue en 1982, en dos brotes de colitis hemorrágica en Estados Unidos. A partir de esta fecha, se han reportado numerosos brotes y casos esporádicos detectados en

distintas partes del mundo (Organización de la Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura, 2018). Lo anterior, sumado a las múltiples formas de transmisión identificadas, han llevado a promover estrategias de prevención y control.

La OMS en el año (2015), publicó las primeras estimaciones de la carga mundial de enfermedades transmitidas por los alimentos, que indicaba que en 2010 más de 600 millones de personas contrajeron enfermedades transmitidas por los alimentos causadas por agentes microbiológicos y químicos, incluyendo la bacteria *Escherichia coli* productora de toxina *Shiga* (STEC), (Organización Mundial de la Salud, 2018).

El desarrollo de un Manual de Procedimientos en Microbiología de Alimentos para la detección de microorganismos patógenos, consiste en garantizar que el laboratorio produzca resultados analíticos fiables y de alta calidad, con una documentación continua que facilite un historial de los análisis claro, preciso e indiscutible, y cuyos diversos elementos estén todos armonizados entre sí. En este sentido, se establecen los mecanismos de validación y verificación que proporcionan medios para asegurar que el sistema funcione correctamente.

La importancia del desarrollo e implementación de la detección molecular de patógenos, se basa en que, si bien existen numerosos métodos de referencia y alternativos para la detección de microorganismos en alimentos, muchas bacterias patógenas como las STEC tienen características muy diferentes al resto de bacterias del grupo de las Enterobacterias, por lo que la gran mayoría de los métodos convencionales no permiten su detección.

Actualmente, los laboratorios externos que brindan el servicio de análisis presentan limitantes debido al uso de métodos convencionales, que no permiten la detección de *Escherichia coli* enterotoxigénica o STEC, porque no están

diseñados para este fin. La implementación de una metodología molecular específica y sensible para la detección de *Escherichia coli* O157:H7 y no O157 en el Laboratorio de AUPSA, permitió detectar uno de los principales patógenos responsables de enfermedades diarreicas de transmisión alimentaria en productos cárnicos.

De enero del año 2014 a diciembre de 2017, la AUPSA por conducto de la Dirección Nacional de Análisis y Control de Alimentos Importados, a través de la plataforma del SISNIA ha asignado 69,164 muestreos y 95,164 análisis de laboratorio a alimentos importados que incluyeron: productos cárnicos de origen bovino, porcino, aviar, frutas y vegetales frescos, granos, cereales, fórmulas infantiles, productos lácteos y derivados, productos listos para consumo, productos pre-envasados, y materia prima para la industria alimentaria, entre otros (Autoridad Panameña de Seguridad de Alimentos/Datos Estadísticos, 2018). A continuación, se presenta el total de muestreos y análisis realizados a productos alimenticios importados a Panamá.



Figura 6. Total de muestras y análisis realizados a los alimentos importados a Panamá del año 2014 a 2017.

Fuente: (Autoridad Panameña de Seguridad de Alimentos/Datos Estadísticos, 2018).

La cantidad de análisis realizados, es mayor que la cantidad de muestras que ingresaron al país, porque a un mismo producto alimenticio, se le puede asignar diversos análisis o parámetros de laboratorio. Por ejemplo, a los productos cárnicos se les asigna parámetros de análisis de microbiología, químicos como metales pesados (cadmio y plomo), y de residuos tóxicos. La AUPSA realiza a los alimentos importados análisis de microbiología, físico-química, entomología, nematología, residuos tóxicos de plaguicidas, entre otros (Autoridad Panameña de Seguridad de Alimentos, 2006).

Los resultados de estos cuatro años de análisis señalan que el 97.71% (92,994) de los análisis tienen resultado Conforme. Mientras, el 2.28% (2,170) de los

análisis corresponden a resultados No Conformes, basados en las reglamentaciones, normativas y legislaciones vigentes nacionales e internacionales. Estos resultados no satisfactorios corresponden a análisis de entomología, microbiología y química.

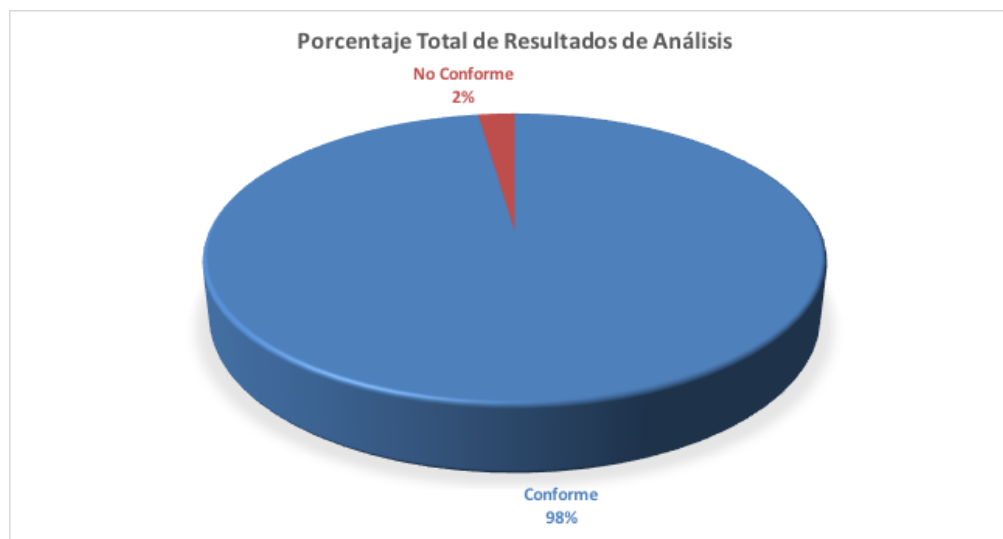


Figura 7. Porcentaje total de resultados de análisis de laboratorio en base a su evaluación de conformidad.

Fuente: (Autoridad Panameña de Seguridad de Alimentos/Datos Estadísticos, 2018).

A continuación, presentamos el desglose por año de las evaluaciones de los resultados de análisis realizadas del año 2014 a 2017.



Figura 8. Evaluación de la conformidad de los resultados de análisis realizados de 2014 a 2017.

Fuente: (Autoridad Panameña de Seguridad de Alimentos/Datos Estadísticos, 2018).

Luego de revisar el historial de los resultados No Conformes para microbiología, se observó que el principal patógeno detectado en cárnicos de origen bovino y porcino, así como en vegetales frescos fue *Escherichia coli*, y en aves y sus subproductos es *Salmonella* (Autoridad Panameña de Seguridad de Alimentos/Datos Estadísticos, 2018).

Esto generó una gran preocupación en la entidad, debido al incremento en las importaciones de productos cárnicos y a la limitada capacidad diagnóstica de los laboratorios externos, no solo por el espacio físico, sino también por la

metodología, tiempos de respuesta y poder determinar si las *E. coli* detectadas corresponden a grupos patógenos.

En el país se ha incrementado la importación de carne denominada fresca (corresponde a cortes de carne bovina y porcina sin hueso), y carne congelada que incluye carne bovina y porcina con hueso, canales y medias canales.

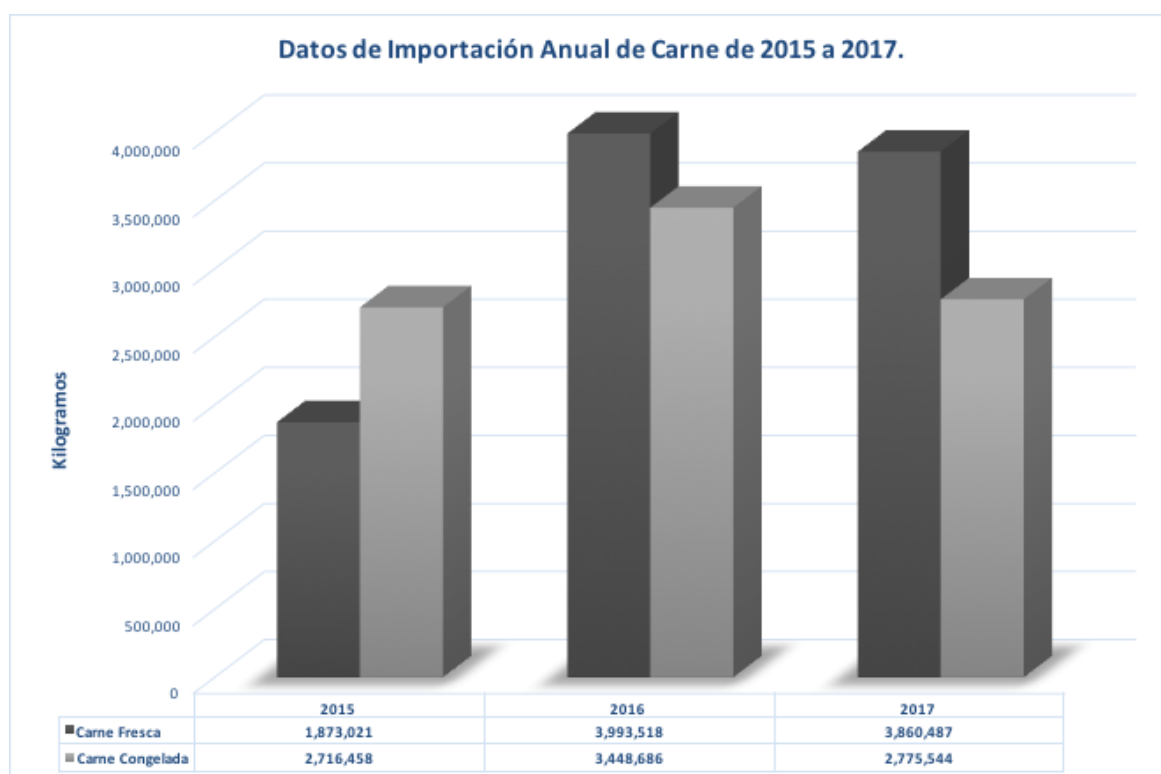


Figura 9. Datos de la importación anual de carne fresca y congelada correspondiente a los años 2015 a 2017.

Fuente: (Autoridad Panameña de Seguridad de Alimentos/Datos Estadísticos, 2018).

Los tres principales países que importan carne a Panamá son Estados Unidos, Canadá y Nicaragua. Sin embargo, como podemos observar en la (Figuras 10), Estados Unidos y Nicaragua para el año 2015 importaron carne en igual

porcentaje (32%). Mientras para los años 2016 y 2017, Nicaragua quedó como primer país que más carne importó a Panamá con 41% y 51%, respectivamente (Figura 11 y Figura 12).

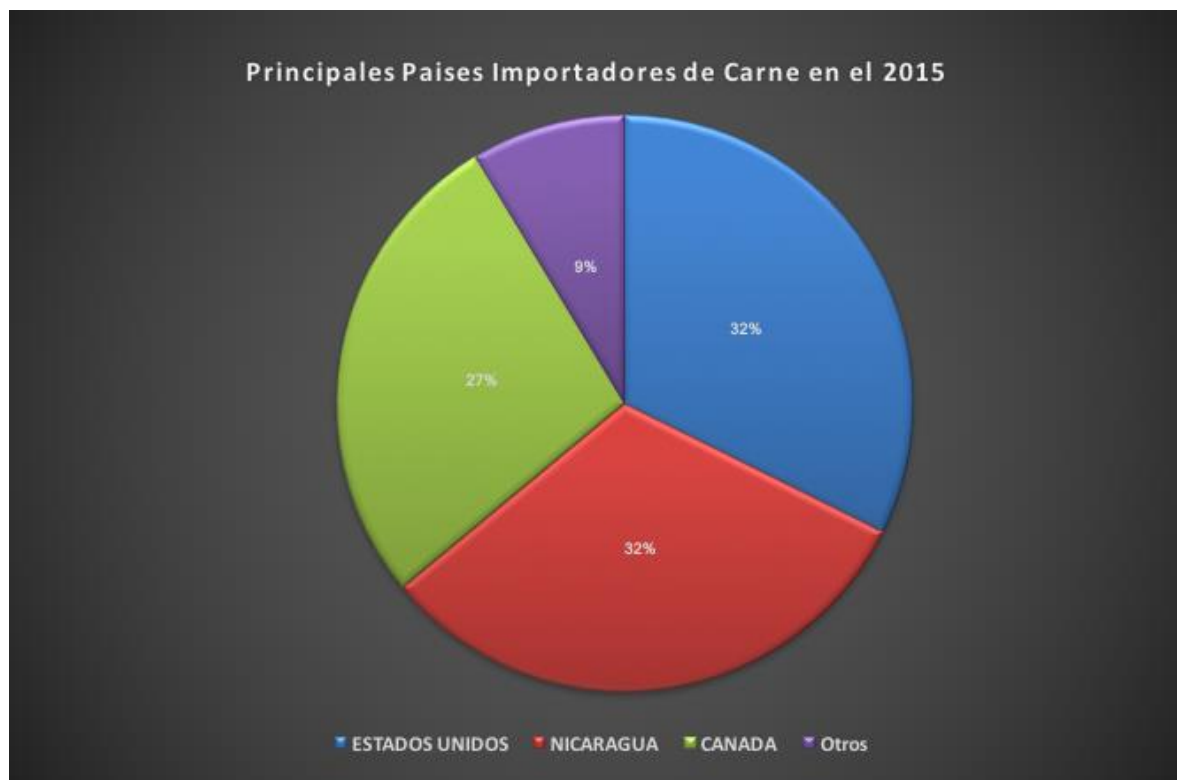


Figura 10. Principales países que importan carne a Panamá en el año 2015.

Fuente: (Autoridad Panameña de Seguridad de Alimentos/Datos Estadísticos, 2018).

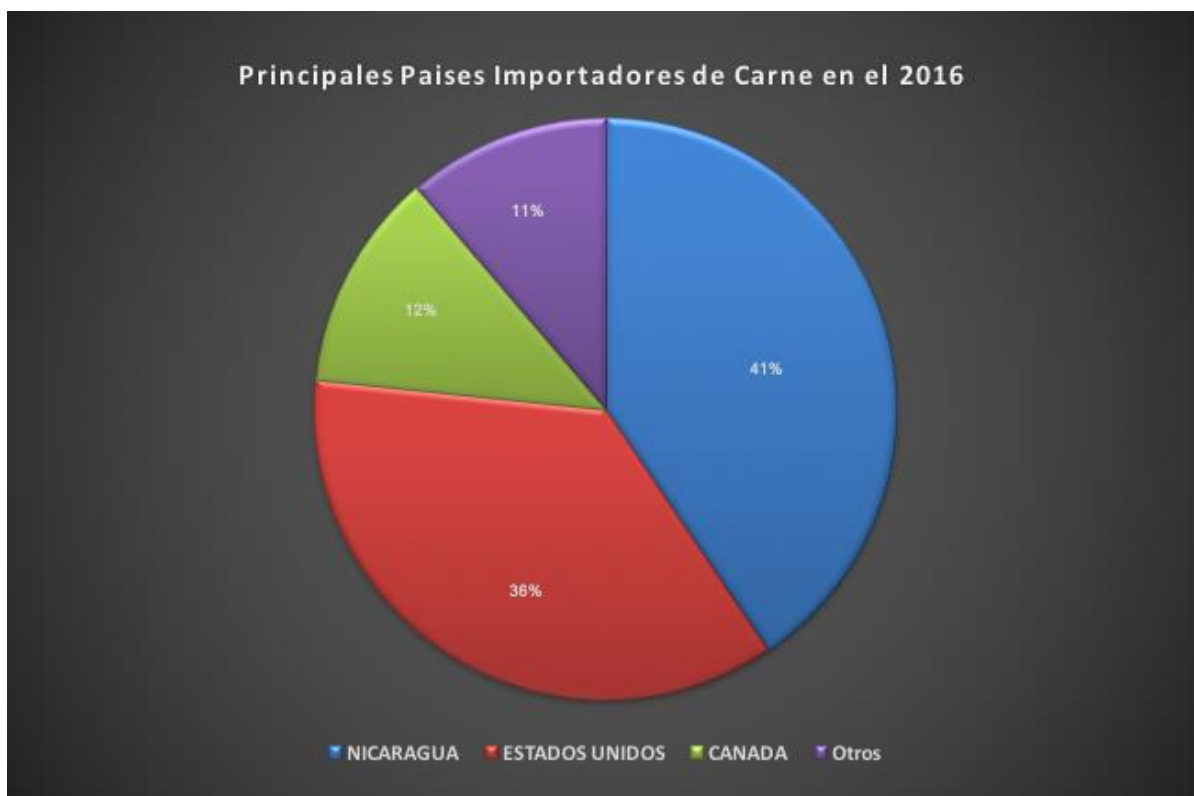


Figura 11. Principales países que importan carne a Panamá en el año 2016.

Fuente: (Autoridad Panameña de Seguridad de Alimentos/Datos Estadísticos, 2018).

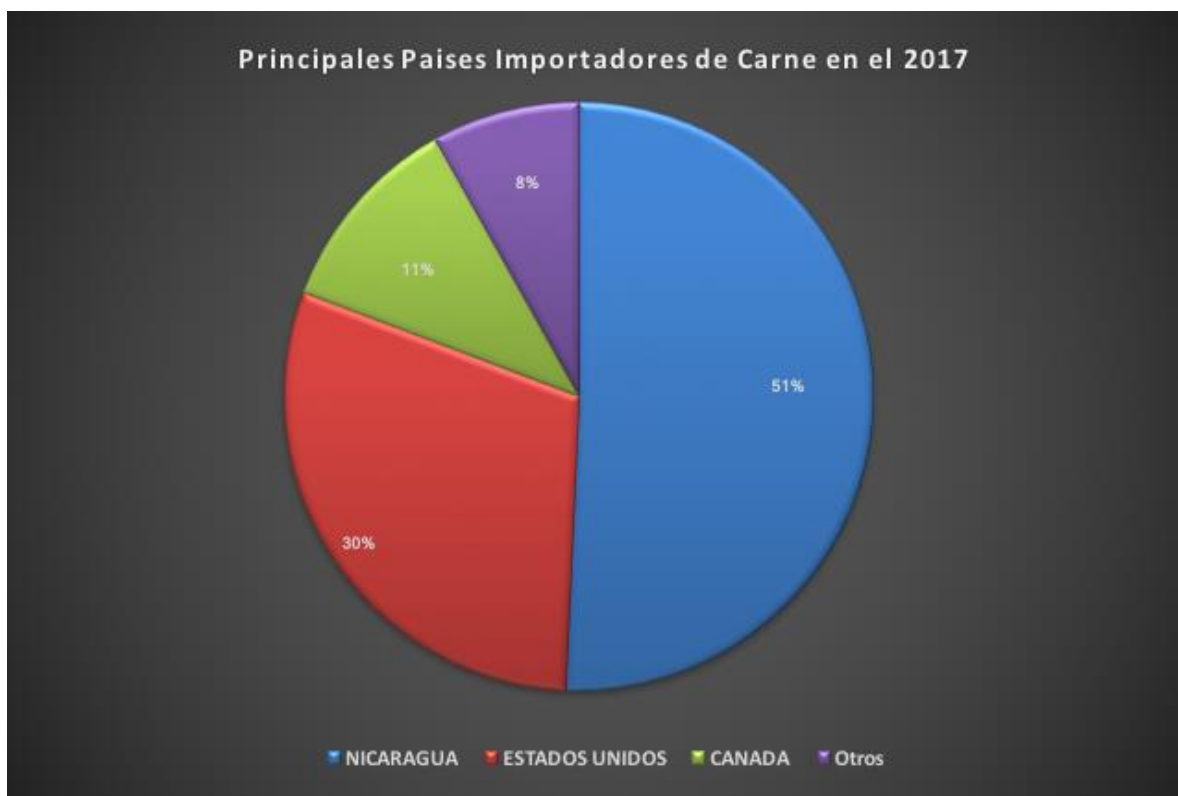


Figura 12. Principales países que importan carne a Panamá en el año 2017.

Fuente: (Autoridad Panameña de Seguridad de Alimentos/Datos Estadísticos, 2018).

Panamá por el Tratado de Libre Comercio con Estados Unidos mantiene una equivalencia con el sistema sanitario de este país. Estados Unidos es una potencia comercial mundial, al ser el país más desarrollado del mundo mantiene garantías sanitarias en todos sus procesos. Prueba de esto es la reciente aprobada Ley de Modernización de Inocuidad Alimentaria (FSMA-FDA) de los Estados Unidos (Administración de Medicamentos y Alimentos/FSMA, 2018). La FSMA tiene como propósito evitar la producción de alimentos contaminados, lo cual es mucho más efectivo que confiar en la detección de bienes contaminados en la distribución y aplicar medidas correctivas.

Pero a pesar de lo mencionado anteriormente, se han detectado cárnicos con resultado no satisfactorio para *Escherichia coli* procedente de Estados Unidos. Sumado a esto, es importante mencionar que, en los dos últimos años, las agencias sanitarias internacionales relacionadas con alimentos, han informado de brotes y retiros de alimentos por *Escherichia coli* productora de toxina Shiga (STEC), incluyendo O157:H7 y no O157 como O104 en tortas de carne picada, productos listos para el consumo, y vegetales (Administración de Medicamentos y Alimentos/Alertas Sanitarias, 2018).

También, se ha detectado resultados no satisfactorios para productos cárnicos originarios de Nicaragua, y debido a la gran cantidad de carnes que importan y a las dificultades citadas previamente con los laboratorios externos que nos brindan el servicio de análisis, se consideró que el desarrollo e implementación de este proyecto de investigación era prioritario para Panamá.

En países como Estados Unidos y Canadá se han reportado infecciones por esta bacteria relacionados con el consumo de carne bovina o productos lácteos contaminados (Nataro, 1998). Mientras en América del Sur, los países que reportan aislamientos de ECEH son principalmente Chile y Argentina (Huguet, 2002).

En Nueva Zelanda se demostró en un estudio que la importación de carne de cerdo sin cocer, es una vía potencial para la introducción de nuevos clones de *Salmonella* y *E. coli* O157: H7, por lo que es necesario una buena higiene doméstica y la calidad de la carne de cerdo importada (Wong, 2009).

En el año 2016 según datos del Ministerio de Salud de Panamá, se reportaron 81 casos de muerte por enfermedad diarreica aguda en menores de 5 años. Mientras la gastroenteritis y colitis de origen no especificado ocuparon el segundo lugar,

como las principales causas de morbilidad en adultos (Ministerio de Salud/Estadística de Salud, 2016). Esto demuestra la importante necesidad de proyectos de investigación para la detección molecular de patógenos de importancia en salud pública, que no pueden ser detectados, ni diferenciados por métodos tradicionales. Como es el caso de la metodología propuesta en este manual de procedimiento (Figura 5), que permitió de manera oportuna verificar la inocuidad y calidad de los alimentos importados, para proteger la salud pública y el bienestar de los consumidores, promover el comercio de los alimentos, pero con el compromiso de protección a los intereses nacionales de salud y del sector agropecuario del país.

Se ha demostrado que *E. coli* STEC O157:H7 y no O157 son patógenos transmitidos por alimentos como carne cruda y subproductos. Que puede ocasionar problemas graves a la salud y hasta causar la muerte. Se ha identificado por el Servicio de Inspección e Inocuidad de Alimentos del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA/FSIS), como un adulterante en la industria cárnica de Estados Unidos (USDA FSIS, 2018). Su dosis infectiva es baja y este microorganismo presenta dificultades para ser detectado con los métodos de cultivo tradicionales, especialmente si el patógeno se encuentra en pequeñas cantidades compitiendo con la flora presente.

Todo lo anterior pone de manifiesto la necesidad de disponer de métodos rápidos y eficaces para la detección de microorganismos de riesgo, tanto para garantizar la salud del consumidor de forma preventiva y evitar la alarma social, como para poder identificar de forma confiable los alimentos implicados en brotes, permitiendo el retiro y destrucción seguras del mercado.

Es valioso porque permite tomar medidas correctivas, evaluar la mejora continua y establecer procedimientos para el retiro y destrucción, y mantener la trazabilidad de las plantas relacionadas con resultados no satisfactorios.

5. CONCLUSIONES

Luego de realizar esta investigación, se concluye que:

1. Se logró determinar la presencia de *Escherichia coli* productora de toxina shiga (STEC) O157:H7 y no O157 (O26, O11, O12, O45, O111, O145), utilizando el diagnóstico molecular en productos cárnicos de origen bovino, porcino y aviar.
2. Se logró determinar una incidencia intermedia de *Escherichia coli* O157 y no O157 en productos cárnicos de origen bovino y porcino, y baja en productos cárnicos de origen aviar.
3. Los productos cárnicos positivos por *Escherichia coli* O157 y no O157 deben ser retirados del mercado y destruidos de inmediato, debido al alto riesgo que representan para la salud pública por el desarrollo de enfermedades de transmisión alimentaria, y confirma la importancia de este patógeno en brotes de ETA.
4. La implementación de una metodología molecular específica y sensible para la detección de *Escherichia coli* O157:H7 y STEC no O157 (O26, O11, O12, O45, O111 y O145) en el Laboratorio de AUPSA, permitió realizar análisis de detección de uno de los principales grupos de patógenos que causan enfermedades diarreicas de transmisión alimentaria en productos cárnicos.
5. Los métodos moleculares tienen la ventaja de emisión de resultados en un tiempo corto de 24-48 horas, disminuyendo el periodo para diferenciar entre resultados Conformes y No Conformes, y la toma de decisiones oportunas.
6. Esto permitió que, como Autoridad competente en materia de productos alimentarios importados, se cumplieran e implementarán todas las medidas y/o acciones necesarias para proteger la salud pública de la población y

garantizar que los alimentos que consume la población son inocuos y de calidad.

7. Los métodos de detección molecular son eficientes y confiables para microorganismos patógenos difíciles de cultivar y diferenciar por métodos tradicionales.
8. El desarrollo de un manual de procedimiento para laboratorio de análisis de alimentos, permite identificar lotes de producción, fechas de caducidad e importadores, importante para la toma de decisiones y medidas correctivas relacionadas con salud pública.
9. Luego de evaluar los resultados obtenidos del diagnóstico molecular, como parte de la mejora continua en planes que fortalezcan los sistemas de salud pública de Panamá, es necesario mantener la rastreabilidad/trazabilidad de todos los productos importados, principalmente de los alimentos de alto riesgo, para posibles retiros y operativos de destrucción de productos alimentarios contaminados. También, restringir el ingreso de productos alimenticios de países con sistema sanitarios débiles que no garanticen la inocuidad de sus productos alimentarios y pongan en riesgo la salud pública de la población.

6. RECOMENDACIONES

Se recomienda que:

1. Se amplíen las técnicas de detección molecular por PCR en Tiempo Real a otros productos de alto riesgo como frutas y vegetales frescos.
2. Se estandaricen las técnicas de control y seguimiento para otros patógenos de importancia en ETA como *Salmonella*, Hepatitis A, E, Norovirus, entre otros.
3. Se lleve una bitácora documental escrita y digital del inventario de insumos y reactivos para optimizar el trabajo y los tiempos.
4. Se realicen capacitaciones teórico prácticas y actualizaciones para cumplir con los procedimientos.
5. Se cree un adecuado programa de capacitación, que permita que todos los involucrados en el sistema de rastreabilidad/trazabilidad, realicen las actividades requeridas de forma adecuada, clara y legible.
6. Se realice la transferencia de tecnología a los laboratorios que se encargan de verificar la inocuidad y calidad de los alimentos de producción local.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Administración de Medicamentos y Alimentos/Alertas Sanitarias. (2018). www.fda.gov. Recuperado el Diciembre de 2017.
2. Administración de Medicamentos y Alimentos/FSMA. (2018). www.fda.gov. Recuperado el Marzo de 2018.
3. AESAN. (2012). *Medidas de prevención y recomendaciones aplicables para evitar posibles infecciones alimentarias por cepas de Escherichia coli verotoxigénicos/ productores de toxinas Shiga/enterohemorrágicos (VTEC/ STEC/ EHEC)*. Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN)., Comité Científico, España.
4. Al-Bahry, S. N.-M.-A. (2013). Escherichia coli tetracycline efflux determinants in relation to tetracycline residues in chicken. . *Asian Pac J Trop Med.*, 6(9), 718-22.
5. Anderson, M. A. (2006). Diversity and distribution of Escherichia coli genotypes and antibiotic resistance phenotypes in feces of humans, cattle, and horses. . *Appl Environ Microbiol.*, 72(11), 6914-22.
6. Autoridad Panameña de Seguridad de Alimentos. (22 de Febrero de 2006). www.aupsa.gob.pa. Recuperado el 15 de Enero de 2018.
7. Autoridad Panameña de Seguridad de Alimentos/Datos Estadísticos. (2018). www.aupsa.gob.pa. Recuperado el Febrero de 2018.
8. Autoridad Panameña de Seguridad de Alimentos/Elegibilidad de País. (5 de Diciembre de 2013). www.aupsa.gob.pa. Recuperado el 10 de Marzo de 2018.
9. Autoridad Panameña de Seguridad de Alimentos/Manual de Laboratorio. (2018). Manual de Procedimiento de Microbiología de Alimentos de AUPSA.
10. Autoridad Panameña de Seguridad de Alimentos/Manual de Muestreo. (8 de Octubre de 2013). www.aupsa.gob.pa. Recuperado el 15 de Marzo de 2018.
11. Autoridad Panameña de Seguridad de Alimentos/Manual Procedimiento de Verificación. (27 de Noviembre de 2017). Recuperado el 10 de Marzo de 2018, de www.aupsa.gob.pa.
12. Betancor, I. G. (2008). *Genética Bacteriana* (3ra Ed ed.). Montevideo, Uruguay: Oficina del Libro FEFMUR.
13. Beutin, L. G. (1993). Prevalence ad some properties of verotoxin (Shiga-like-toxin) producing Escherichia coli in seven different species of healthy domestic animals. *J Clin Microbiol*, 43, 2483-2488.
14. Blanc, V. (2007). *Caracterización de Cepas y de Plásmidos de Enterobacteriaceae Portadores de β -Lactamasas de Espectro Extendido*. Obtenido de Tesis de Doctorado, Universidad Autónoma de Barcelona, Barcelona.
15. Caprioli, A. M. (2005). Enterohaemorrhagic Escherichia coli: emerging issues on virulence and modes of transmission. . 36(3):289-311. *Vet Res*.

16. Cardozo, A. M. (2013). Electroforesis en Gel de Campo Pulsado.
17. Clermont, O. B. (2000). Rapid and simple determination of the *Escherichia coli* phylogenetic group. *Appl Environ Microbiol*, 66, 4555-4558.
18. Codex Alimentarius/Análisis de Riesgo. (1997). *www.fao.org*. Recuperado el 18 de Enero de 2018.
19. Codex Alimentarius/Criterios Microbiológicos. (2018). Recuperado el 10 de Marzo de 2018, de *www.fao.org*.
20. Codex Alimentarius/Definiciones. (1997). *www.fao.org*. Recuperado el 25 de Enero de 2018.
21. Codex Alimentarius/Directrices Generales Muestreo. (2004). Recuperado el 10 de Marzo de 2018, de *www.fao.org*.
22. Codex Alimentarius/Normas Internacionales. (1997). *www.fao.org*. Recuperado el 15 de Enero de 2018.
23. Convención Internacional de Protección Fitosanitaria. (1997). *www.ippc.int*. Recuperado el 20 de Enero de 2018.
24. Cortes, M. (2007). *El ganado caprino como reservorio de bacterias enteropatógenas potencialmente zoonóticas*. Tesis Doctoral., UCM, Facultad de Veterinaria.
25. Cortez, O. (2002). Brote causado por *Escherichia coli* en Chalco, México. *Salud Pública*, 44(4), 297-302.
26. Costa, D. P.-B. (2008). Mechanisms of antibiotic resistance in *Escherichia coli* isolates recovered from wild animals. *Microb Drug Resis*, 14(1), 71-7.
27. Crespo, P. S. (1998). Especificidad de los sistemas de vigilancia de la salud pública: diagnóstico de *E. coli* enterotóxico en España. *Bol Epidemiol Sem*, 6(4), 37-48.
28. Croxen, M. F. (2010). Molecular mechanisms of *Escherichia coli* pathogenicity. *Nature Rev Microbiol*, 8(1), 26-38.
29. de Jong, A. V. (2012). Pan-European monitoring of susceptibility to human-use antimicrobial agents in enteric bacteria isolated from healthy food-producing animals. *J Antimicrob Chemother.*, 67, 638–51.
30. Elias, W. G. (2008). *Escherichia coli* Enteroagregativa (EAEC). En T. L. F., *Microbiología*. (5ta Edición. ed., págs. 295-299). São Paulo: Atheneu. P. .
31. Escobar-Paramo, P. L. (2006). Identification of forces shaping the commensal *Escherichia coli* genetic structure by comparing animal and human isolates. *Environ Microbiol.* , 8, 1975-1984.
32. FAO. (2012). *Prevención de la E. coli en los alimentos*. Recuperado el 23 de Diciembre de 2018, de http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/agns/pdf/Preventing_Ecoli_es.pdf
33. FAO/OMS. (13-17 de marzo de 1995). *Codex Alimentarius*. Recuperado el 10 de Febrero de 2018, de *www.fao.org*
34. FAO/OMS. (2-6 de Febrero de 1998). *Codex Alimentarius*. Recuperado el 20 de Febrero de 2018, de *www.fao.org*
35. FAO/OMS. (27-31 de Enero de 1997). *Codex Alimentarius*. Recuperado el 12 de Febrero de 2018, de *www.fao.org*

36. Fisiología y Cinética Microbiana. (2018). Recuperado el 20 de Diciembre de 2018, de www.qb.uson.mx
37. García Hernández, A. E. (2011). Bacteriemias por *Escherichia coli* productor de betalactamasas de espectro extendido (BLEE): significación clínica y perspectivas actuales. . *Rev Esp Quimioter.*, 24(2), 57-66.
38. Garrity, G. B. (2005). *Bergey's manual of determinative bacteriology*. New York, EE.UU: Springer.
39. Guth, B. (2008). *Escherichia coli* Productora de Toxina Shiga (STEC). En T. L. F., *Microbiología. 5ª ed.* (págs. 289-293). São Paulo: Atheneu.
40. Hernández-Cortez, C. A.-A.-E. (2011). Situación de las enfermedades gastrointestinales en México. *Enf Inf Microbiol.*, 131(4), 137-151.
41. Hernández-León, R. I.-M. (2010). Metagenómica de suelo. Grandes desafíos y nuevas oportunidades biotecnológicas. . *Phyton (B. Aires)*, 79(2), 133-139.
42. Herzer, P. I. (1990). Phylogenetic distribution of branched RNA-linked multicopy single-stranded DNA among natural isolates of *Escherichia coli*. *J Bacteriol.*, 172, 6175-6181.
43. Huang, D. M. (2006). Emerging enteric pathogen: enteroaggregative *Escherichia coli*. *J Med Microbiol.*, 55, 1303-1311.
44. Huguet, J. B. (2002). Determinación de Factores de Virulencia asociados a *Escherichia coli* enterohemorrágica en cepas peruanas aisladas entre 1999-2001. . *Rev. peru. med. exp. salud publica*, 19(2), 63-67.
45. Johnson, J. (1991). Virulence factors in *Escherichia coli* urinary tract infection. *CMR*, 4, 80-128.
46. Kaesbohrer, A. A. (2012). Emerging antimicrobial resistance in commensal *Escherichia coli* with public health relevance. . *Zoonoses Public Health*, 59(2), 158-65.
47. Kaper, J. J. (2004). Pathogenic *Escherichia coli*. . *Nat Rev Microbiol.*, 2(2), 123-40.
48. Koneman, E. A. (2008). *Diagnóstico microbiológico*. (A. 6. ed., Ed.) Londres: editorial Panamericana de Medicina Ltda Brasil.
49. Koo, H. J. (2011). Distribution and transferability of tetracycline resistance determinants in *Escherichia coli* isolated from meat and meat products. . *Int J Food Microbiol.*, 145(2-3), 407-13.
50. Laboratory Guidebook, USDA/FSIS. (2015). www.fsis.usda.gov. Recuperado el Enero de 2018.
51. Levine, M. (1987). *Escherichia coli* that cause diarrhea: enterotoxigenic, enteropathogenic, enteroinvasive, enterohemorrhagic and enteroadherent. *J Infect Dis.*, 155, 377-389.
52. Madigan, M. M. (2015). *Brock Biology of Microorganisms*. (Vol. Fourteenth edition). United States: Pearson Education Limited.
53. Malttar, S. (2005). Utilidad de la Biología molecular en el estudio de zoonosis. *Instituto de Biología del Trópico.*, 5(1), 46-50.

54. Margall, N. D. (1997). Gastro-hemorrhagic Escherichia coli. *Rev Esp Salud Púb*, 71, 437-43.
55. Margall, N., Dominguez, A., Prats, G., & Salleras, L. (1997). Gastro-hemorrhagic Escherichia coli. *Rev Esp Salud Púb*, 71, 437-43.
56. Ministerio de Salud de Panamá/Departamento de Protección de Alimentos. (2018). Recuperado el 7 de Marzo de 2018, de www.minsa.gob.pa
57. Ministerio de Salud/Estadística de Salud. (2016). *Ministerio de Salud. Dirección de Planificación. Departamento de Registro y Estadística de Salud*. Ministerio de Salud. República de Panamá, Panamá.
58. Ministerio de Salud/Guía VETA PAN. (2001). *Guía de Sistema de Vigilancia de las Enfermedades Transmitidas por Alimentos (VETA). Adaptada de la Guía VETA elaborada por INPPAZ. OPS/OMS*. Ministerio de Salud. República de Panamá, Panamá.
59. Ministerio de Salud/Guía VETA/PAN. (2013). *Guía de Sistema de Vigilancia de las Enfermedades Transmitidas por Alimentos (VETA)*. Ministerio de Salud. República de Panamá, Panamá.
60. Mosquito, S. J. (2011). Mecanismos moleculares de resistencia antibiótica en Escherichia coli asociadas a diarrea. *Rev Peru Med Exp Salud Pública*, 28(4), 648-56.
61. Mullis, K. B. (1987). 987. Specific synthesis of AND in vitro via Polymerase Chain Reaction. *Meth Enzymol.* , 155, 335-350.
62. Muniesa. (Diciembre de 2011). Trasferencia genética horizontal en Escherichia coli patógenas. *Dep. Microbiología; Universidad de Barcelona.*, 52-54.
63. Narváez, R. V. (2000). Comparación de RAPD y AFLP como método de identificación genética, basado en el estudio de fragmentos Genómicos. *60(4)*, 320-340.
64. Nataro, J. K. (1998). Diarrheagenic Escherichia coli. *Clin Microbiol Rev*, 11(2), 142-201.
65. Organización de la Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura. (2018). www.fao.org/ag/agn/jemra_riskaassessment_ecoli_es.asp. Recuperado el Marzo de 2018.
66. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (1961). www.fao.org. Recuperado el 15 de Enero de 2018
67. Organización Mundial de la Salud. (2000). *WHO issues: New recommendations to protect human health from antimicrobial use in food animals*. . Recuperado el 1 de Marzo de 2018, de Citado en: <http://www.who.int/inf-pr-2000/en/pr2000-43.html>.
68. Organización Mundial de la Salud. (2001). *Estrategia mundial de la OMS para contener la resistencia a los antimicrobianos*. . Recuperado el 1 de Marzo de 2018, de http://www.antibioticos.msc.es/PDF/resist_OMS_estrategia_mundial_contra_resistencias.pdf.

69. Organización Mundial de la Salud. (2012). http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44812/1/9789241503181_eng.pdf?ua=1.
70. Organización Mundial de la Salud. (2018). www.wto.org. Recuperado el 15 de Enero de 2018
71. Organización Mundial de Sanidad Animal. (2018). www.oie.int. Recuperado el 20 de Enero de 2018.
72. Organización Mundial del Comercio. (2018). www.wto.org. Recuperado el 15 de Enero de 2018
73. Organización Panamericana de la Salud. (2018). Recuperado el 20 de Febrero de 2018, de www.paho.org.
74. Osatinsky, R. (2007). ¿Qué es la electrophoresis capilar? *Bioquímica y Patología . Clínica. Redalyc. , 71(2)*, 60-66.
75. Paniagua, G. M. (2007). Fenotipos de resistencia a antibióticos en cepas de *Escherichia coli* diarreogénicas detectadas en infantes mediante reacción en cadena de la polimerasa multiplex. . *Rev Med Hosp Gen Mex., 70(4)*, 158-167.
76. Pérez De Rosas, A. (2003). *Estudio de la diversidad Intestinal por RFLP. En Avances en nutrición y alimentación animal. .* Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal.
77. Perna, N. (2001). Genome sequence of enterohaemorrhagic *E. coli* O157:H7. *Nature, 409*, 529-533.
78. Picard, B. S. (1998). The link between Phylogeny and Virulence in *Escherichia coli* Extraintestinal Infection. *Infect Immun., 67(2)*, 546-553.
79. Rebello, R. (2012). *Características biogenéticas y resistencia al mercurio en Escherichia coli aisladas de los sistemas acuáticos, en Río de Janeiro.* Tesis Maestría., Escuela Nacional de Salud Pública Sergio Arouca, Río de Janeiro., Brazil.
80. Ríos, T. (2012). *Caracterización de la resistencia a β -lactámicos y quinolonas en cepas de E. coli aisladas de la microbiota intestinal humana.* Benemérita Universidad Autónoma de Puebla., Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas. México.
81. Rivas, L. F. (2007). Attachment of Shiga toxigenic *Escherichia coli* to stainless steel. *Int J Food Microbiol., 115(1)*, 89-94.
82. Rodríguez, G. (2002). *Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de Escherichia coli. .* (Vol. 44). Mexico: Salud pública Méx.
83. Rodríguez, R. A. (2009). Detección de Microorganismos mediante Métodos Moleculares. . *Acta Química Mexicana (AQM) Revista de Divulgación Científica.*
84. Ruiz, A. M. (2005). *Tratado de SEIMC de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica.* Buenos Aires. Medical Panamericana.

85. Sambrook, J. D. (2001). *Molecular cloning: a laboratory manual*. (3ra edición. ed.). Cold Spring Harbour Laboratory Press, New York, United States.
86. Sambrook, J. F. (1989). Gel electrophoresis of DNA. Chapter 6. En J. F. In: Sambrook, *Molecular Cloning: a Laboratory Manual*. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, USA.
87. Santamaría, J. L. (2011). Detection and diversity evaluation of tetracycline resistance genes in grassland-based production systems in Colombia, South America. *Front Microbiol*, 252(2), 1-9.
88. Schwartz, D. C. (1984). Separation of yeast chromosome-sized DNAs by pulsed Field Gradient Gel Electrophoresis. . *Cell*, 3, 37(1), 67-75.
89. Soto, S. (2006). Expresión de factores de virulencia en cepas extra intestinales de Escherichia coli. . *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 24, 479-480.
90. Southern, E. A. (1987). A model for the separation of large DNA molecular by crossed field gel electrophoresis. *Nucleic Acids Res*, 15, 592-5943.
91. Todar, K. (2008). *Pathogenic E. coli*. University of Winconsin-Madison., Department of Bacteriology.
92. USDA FSIS. (2018). www.fsis.usda.gov. Recuperado el Marzo de 2018.
93. Villa, M. &. (2013). Diarrea del viajero. *Rev Med.* , 24, 543.
94. Wasyl, D. A. (2013). Antimicrobial resistance in comensal Escherichia coli isolated from animals at slaughter. *Front Microbiol*, 221(4), 1-12.
95. Wong, T. M. (2009). Salmonella, Escherichia coli O157:H7 and E. coli biotype 1 in a pilot survey of imported and New Zealand pig meats. *Food Microbiol.*, 26(2), 177-82.
96. Zambrano, A. (2012). *Implementación de un ensayo PCR multiplex para la identificación de las enterovariedades de Escherichia coli patógenas*. Tesis, Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, Ecuador., Ecuador.
97. Zambrano, J. L. (2002). Resistencia a antimicrobianos y presencia de plásmidos en cepas de Escherichia coli aisladas de aguas residuales crudas y tratadas por lagunas de estabilización con fines de reúso en agricultura. . *Rev Soc Ven Microbiol.*, 22(1), 44-50.

8. ANEXOS

ANEXO 1: ACTA DEL PROYECTO FINAL DE GRADUACIÓN.

Nombre y apellidos: Sara Mercedes Ahumada Ruiz

Lugar de residencia: Ciudad de Panamá, República de Panamá

Institución: Autoridad Panameña de Seguridad de Alimentos (AUPSA)

Cargo / puesto: Directora Nacional de Análisis y Control de Alimentos Importados

Información principal y autorización del PFG	
Fecha: 12 de diciembre de 2017	Nombre del proyecto: Elaboración de un Manual de Procedimiento de Laboratorio de Microbiología de Alimentos para la Detección de Patógenos Adulterantes e Indicadores de Contaminación en Alimentos Importados en la República de Panamá.
Fecha de inicio del proyecto: 21 de diciembre de 2017	Fecha tentativa de finalización: 21 de marzo de 2018
Tipo de PFG: (tesina / artículo): Tesina	
Objetivos del proyecto (general y específicos): Objetivo General: Elaborar un manual de procedimiento de laboratorio de microbiología de alimentos, para la detección de patógenos en alimentos importados en la República de Panamá. Objetivos Específicos: 1. Aplicar un diagnóstico con un grupo representativo de alimentos importados en la República de Panamá, para la determinación de posible presencia de microorganismos patógenos. 2. Analizar la incidencia de los microorganismos patógenos presentes en alimentos importados, para la determinación de un posible retiro o destrucción. 3. Evaluar los resultados del diagnóstico como parte de la mejora continua, para optar por planes de contingencia que fortalezcan los sistemas de salud pública en el país.	
Descripción del producto: Este manual de procedimiento de laboratorio de microbiología de alimentos para la detección de patógenos incluirá, un flujograma de trabajo y el protocolo de procedimientos para el procesamiento de las muestras, crecimiento, detección molecular y confirmación en caso de positivos detectados por técnicas moleculares, el protocolo de seguridad y de descarte de las muestras.	
Necesidad del proyecto:	

Actualmente, la Autoridad Panameña de Seguridad de Alimentos (AUPSA), realiza los análisis para la detección de microorganismos patógenos, en laboratorios estatales externos que no trabajan de manera exclusiva con alimentos, sino que también realizan pruebas de diagnóstico clínico, farmacéutico y medicamentos. Estos laboratorios no tienen suficiente capacidad para aceptar las muestras de alimentos importados, por la falta de espacio físico y personal entrenado. También, de la limitada capacidad de diagnóstico, debido a que hay pruebas importantes que no realizan. Además, de pruebas de detección y cuantificación validadas para una limitada cantidad de matrices de alimentos.

Justificación de impacto del proyecto:

La apertura de un laboratorio exclusivo para el análisis de alimentos, surge ante la necesidad de los constantes peligros causados por agentes patógenos microbiológicos, contaminantes químicos y físicos, alérgenos u otros que pueden ser transmitidos por los alimentos, seguido del incremento en los productos alimenticios importados para consumo humano y la poca capacidad de análisis con que se cuenta hoy en día.

El laboratorio permitirá ampliar la capacidad de detección (Diagnóstico) de matrices de alimentos analizadas, y estandarización e implementación de nuevas técnicas. También, reducir el tiempo de emisión de resultados. Importante para el caso de resultados No Conformes, porque permitirá tomar las medidas correctivas a tiempo, disminuyendo el riesgo de enfermedades transmitidas por alimentos, y garantizando la inocuidad y calidad de los alimentos importados que consume la población del país.

Restricciones:

1. Tiempo para desarrollar y validar el manual de procedimiento.
2. Presupuesto para la compra de equipos, reactivos e insumos para la implementación y estandarización del diagnóstico.
3. Aprobación por el Administrador General de la Autoridad Panameña de Seguridad de Alimentos.

Entregables:

Avances del PFG al tutor (a), entrega documento final para revisión y aprobación del tutor (a) y posteriormente al lector (a).

Identificación de grupos de interés:

Clientes directos:

1. La Autoridad Panameña de Seguridad de Alimentos.
2. Las empresas importadoras de alimentos.

Clientes indirectos:


3. La población que reside en el país.
4. El sistema de salud pública de Panamá.
5. El sistema de salud agropecuaria de Panamá.

Aprobado por Director MIA:


Firma:

Félix Modesto Cañet Prades	
Aprobado profesora Seminario Graduación: MIA. Ana Cecilia Segreda Rodríguez	Firma:
Estudiante: <i>Sara Mercedes Ahumada Ruiz</i>	Firma

ANEXO 2: FORMATO DE ACTA DE TOMA DE MUESTRA DE ALIMENTOS IMPORTADOS.

		ACTA DE TOMA DE MUESTRAS DE ALIMENTOS IMPORTADOS (completar un acta por producto)		NO. 019364
NOTIFICACIÓN NO.		FORMULARIO DE VERIFICACIÓN NO.		
INFORMACIÓN SOBRE LA REMESA				
Nombre del Producto				
Ubicación de la remesa al momento de la toma de muestra				
Tamaño de la remesa <input type="checkbox"/> Alimento Preevasado <input type="checkbox"/> Alimento A Granel	Presentación #1 Número de Pallets _____ Cajas por Pallet _____ Unidades por Caja _____ Peso/Vol. Por Unidad _____	Presentación #2 Número de Pallets _____ Cajas por Pallet _____ Unidades por Caja _____ Peso/Vol. Por Unidad _____		
	<input type="checkbox"/> Peso _____	<input type="checkbox"/> Volumen _____		
Lotes con distintos códigos	Códigos de lote identificados	Unidades por código identificado		
¿Forma parte la remesa o lote de una consignación más amplia?	<input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> SÍ (Ubicación del resto de la remesa o consignación _____)			
INFORMACIÓN SOBRE LA TOMA DE MUESTRA				
Fecha de la toma de muestra	_____ / _____ / _____ ; _____ <input type="checkbox"/> a.m. <input type="checkbox"/> p.m. <small>Día Mes Año Hora</small>			
Nombre, dirección y organismo o afiliación del muestreador				
Método utilizado para el muestreo	<input type="checkbox"/> Aleatorio/Selectivo <input type="checkbox"/> Dirigido (se sospecha la siguiente no conformidad: _____)			
¿Ha sido posible tomar la muestra libremente?	<input type="checkbox"/> SÍ <input type="checkbox"/> NO Observación: _____			
Muestras tomadas enviadas al laboratorio	Unidades tomadas _____	Muestras idénticas conservadas	<input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> SÍ	
Pago del muestreo y análisis	Orden de Análisis NO. _____	Ubicación de las muestras idénticas _____		
	FACTURA NO. _____	Cuenta Banco Nacional de Panamá No. 05-60-00-513 Fondo Especial de Ingreso AUPSA		
OBSERVACIONES				
1) ESTA MERCANCÍA QUEDA RETENIDA Y NO PUEDE SER COMERCIALIZADA HASTA QUE SEA LIBERADA POR AUPSA				
Por la Autoridad		Por el Importador		
Cédula		Cédula		
Fecha		fecha		
ESTE DOCUMENTO NO ES VÁLIDO SIN EL SELLO DE LA AUTORIDAD PANAMEÑA DE SEGURIDAD DE ALIMENTOS				
FDNAC-005-09/13.05.2009				

ANEXO 3: FORMATO DE ORDEN DE ANÁLISIS DE ALIMENTOS IMPORTADOS.

 UPSA <small>AUTORIDAD PANAMEÑA DE SEGURIDAD DE ALIMENTOS</small>	ORDEN DE ANÁLISIS	No. 019271
Notificación No. <input style="width: 150px;" type="text"/>	Formulario de Verificación No. <input style="width: 150px;" type="text"/>	
Laboratorio <input type="checkbox"/> LCRSP <input type="checkbox"/> LADIV <input type="checkbox"/> LSV <input type="checkbox"/> IEA <input type="checkbox"/> Otro <input style="width: 50px;" type="text"/>		
Producto (1 ^{ero} : Marca / 2 ^{do} : Descripción) <input style="width: 700px;" type="text"/>		
Fabricante / Establecimiento No. <input style="width: 600px;" type="text"/> País <input style="width: 100px;" type="text"/>		
Importador <input style="width: 700px;" type="text"/>		
Muestra tomada de (contenedor/establecimiento) <input style="width: 700px;" type="text"/>		
Muestra tomada en fecha <input style="width: 200px;" type="text"/> / <input style="width: 100px;" type="text"/> / <input style="width: 100px;" type="text"/> ; <input type="checkbox"/> a.m. <input type="checkbox"/> p.m. <div style="display: flex; justify-content: space-around; width: 100%;"> día mes año hora </div>		
Presentación de la muestra enviada <input type="checkbox"/> envase individual <input type="checkbox"/> sacos <input type="checkbox"/> cajas <input type="checkbox"/> a granel <input type="checkbox"/> otro <input style="width: 50px;" type="text"/>		
Cantidad de muestras tomadas para análisis <input style="width: 150px;" type="text"/> Peso / Volumen Unitario por muestra <input style="width: 150px;" type="text"/>		
Código de Lote <input style="width: 150px;" type="text"/> <input type="checkbox"/> no declara Fecha de Vencimiento <input style="width: 150px;" type="text"/> <input type="checkbox"/> no declara		
Parámetros de Análisis		
		Entomológico Realizado (marcar sólo cuando aplique) <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO
1. <input style="width: 400px;" type="text"/>	6. <input style="width: 400px;" type="text"/>	
2. <input style="width: 400px;" type="text"/>	7. <input style="width: 400px;" type="text"/>	
3. <input style="width: 400px;" type="text"/>	8. <input style="width: 400px;" type="text"/>	
4. <input style="width: 400px;" type="text"/>	9. <input style="width: 400px;" type="text"/>	
5. <input style="width: 400px;" type="text"/>	10. <input style="width: 400px;" type="text"/>	
Observaciones <input style="width: 700px;" type="text"/>		
Nombre Inspector <input style="width: 400px;" type="text"/> Firma <input style="width: 400px;" type="text"/>		
Fecha <input style="width: 400px;" type="text"/>		
SOLO PARA USO DE LAS OFICINAS CENTRALES DE AUPSA		
<small>ESTE DOCUMENTO NO ES VÁLIDO SIN EL SELLO DE LA AUTORIDAD PANAMEÑA DE SEGURIDAD DE ALIMENTOS</small>		
FDNAC-006-09/13.05.2009		

ANEXO 4: FORMATO DE CERTIFICADO DE ANÁLISIS NO CONFORME.

República de Panamá
Autoridad Panameña de Seguridad de Alimentos
Dirección Nacional de Análisis y Control de Alimentos Importados

Certificación de Análisis No Conforme

Panamá, DD/ MM/ AA
AUPSA-DINACAI-N° nota-año

Señor (es):

E. S. D.

Estimados Señores:

Por medio de la presente hago de su conocimiento los resultados obtenidos del laboratorio _____ realizados al producto _____, correspondiente al número de notificación _____.

Parámetros	Resultado	Especificación (Unidad o Tipo)

FUNDAMENTO LEGAL:

Los resultados son NO CONFORMES por incumplimiento

Atentamente,

Director(a) Nacional de Análisis y Control de Alimentos Importados

FDNAC-002-11/08.10.13

Panamá, Rep. de Panamá. Ave. Ricardo J. Alfaro, Sun Tower Mall, Piso 2, Local 70
 Teléfonos: (507)522-0002 / (507)522-0000 ☎ Fax: (507) 522-0014 / (507) 522-0001
 E-mail: aupsa@aupsa.gob.pa 📧 URL: <http://www.aupsa.gob.pa>

ANEXO 5: FORMATO DE CERTIFICADO DE ANÁLISIS CONFORME.

AUPSA
 AUTORIDAD PANAMEÑA DE SEGURIDAD DE ALIMENTOS
 República de Panamá
 Autoridad Panameña de Seguridad de Alimentos
 Dirección Nacional de Análisis y Control de Alimentos Importados

Certificación de Análisis Conforme

d.d. / m.m. / a.a.
AUPSADINACAL/nota/año

Señor (es):

E. S. D.

Estimados Señores:

Por este medio, certifico que los análisis enviados al laboratorio _____ que corresponde a la notificación _____, cuyos parámetros fueron _____ son conformes a las normas y reglamentaciones vigentes.

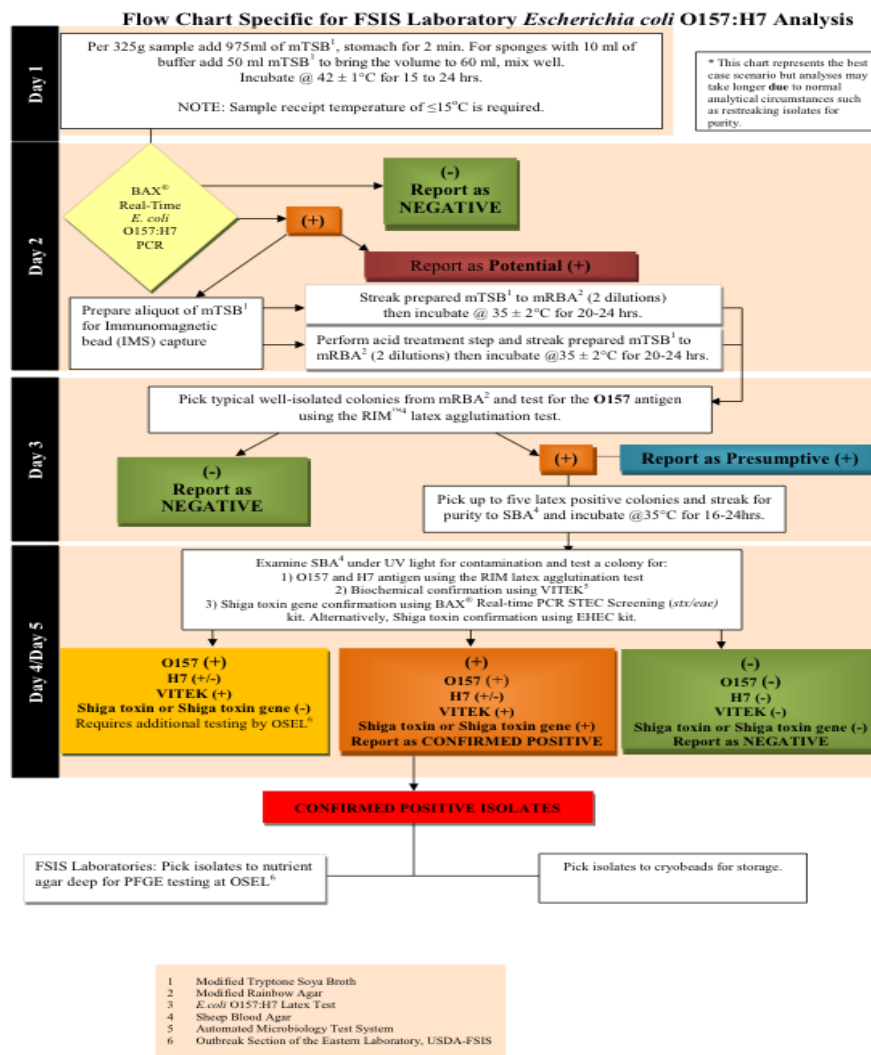
Atentamente;

Director(a) Nacional de Análisis y Control de Alimentos Importados

FDNAC-001-11/29.03.11

Panamá, Rep. de Panamá. Ave. Ricardo J. Alfaro, Sun Tower Mall, Piso 2, Local 70
 Teléfonos: (507)522-0002 / (507)522-0000 ☐ Fax: (507) 522-0014 / (507) 522-0001
 E-mail: aupsa@aupsa.gob.pa ☐ URL: <http://www.aupsa.gob.pa>

ANEXO 6: FLUJOGRAMA DE LABORATORIO (USDA/FSIS) PARA LA DETECCIÓN, AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE *ESCHERICHIA COLI*.



ANEXO 7: CONSOLIDADO DE NORMATIVAS NACIONALES E INTERNACIONALES PARA PRODUCTOS CÁRNICOS.

PARÁMETROS DE ANÁLISIS PARA PRODUCTOS CÁRNICOS:

Descripción	Referencia	Parámetros de Análisis
Carne de aves cruda	Decreto Ejecutivo No. 275 de 29 de noviembre de 1983 y Programa Nacional de Residuos Tóxicos (MINSA)	Antibióticos (ver DE 275 de 1983 para tolerancias)
		Hormonas (ver DE 275 de 1983 para tolerancias)
		Cloranfenicol (ver DE 275 de 1983 para tolerancias)
		Sulfamidas (ver DE 275 de 1983 para tolerancias)
	US Code of Federal Regulations y Programa Nacional de Residuos Tóxicos (MINSA)	Campylobacter
	Reglamento CE 2073/05 y Programa Nacional de Residuos Tóxicos (MINSA)	Recuento de colonias aerobias: n=5, c=2, m=5x10 ⁵ , M=5x10 ⁶ ufc/g
	Reglamento CE 2073/05 y Programa Nacional de Residuos Tóxicos (MINSA)	S. aureus: n=5, c=2, m=10 ² , M=10 ³ ufc/g
	ICMSF y Programa Nacional de Residuos Tóxicos (MINSA)	Salmonella: n=5, c=0, m=0
	Reglamento CE 2073/05	E. coli: n=5, c=2, m=50, M=500 ufc/g
	CODEX STAN 193-1995	Plomo: 0,1 mg/kg
Codex Alimentarius Residuos de Plaguicidas en los Alimentos	2,4-d: 0.05 mg/kg Acefato 0.01 mg/kg Aldrin y dieldrin 0.2 mg/kg Bitertanol 0.01 mg/kg Carbendazim 0.05 mg/kg Cipermetrin 0.05 mg/kg Ciromazina 0.05 mg/kg Cletodim 0.2 mg/kg Clofentezina 0.05 mg/kg Clordano 0.5 mg/kg Clormequat 0.04 mg/kg Ddt 0.3 mg/kg Deltametrin 0.1 mg/kg Diclorvos 0.05 mg/kg Dicofol 0.1 mg/kg Diflubenzuron 0.05 mg/kg Dimetoato 0.05 mg/kg Diquat 0.05 mg/kg Disulfoton 0.02 mg/kg Endosulfan 0.03 mg/kg Endrin 0.1 mg/kg Etefon 0.1 mg/kg Fenamifos 0.01 mg/kg	

Descripción	Referencia	Parámetros de Análisis
		Fenbuconazol 0.05 mg/kg Fenpropatrin 0.02 mg/kg Fipronil 0.01 mg/kg Flutolanil 0.05 mg/kg Glufosinato-amonio 0.05 mg/kg Heptacloro 0.2 mg/kg Imidacloprid 0.02 mg/kg Kresoxim-metilo 0.05 mg/kg Lindano 0.05 mg/kg Metidation 0.02 mg/kg Metomilo 0.02 mg/kg Miclobutanilo 0.01 mg/kg Oxamilo 0.02 mg/kg Permetrin 0.1 mg/kg Piperonil butóxido 7 mg/kg Propamocarb 0.01 mg/kg Propargita 0.1 mg/kg Quinoxifen 0.02 mg/kg Tebufenozida 0.02 mg/kg Thiacloprid 0.02 mg/kg Tiabendazol 0.05 mg/kg Bifentrin 0.05 mg/kg Clorpirifos-metilo 0.05 mg/kg Diazinon 0.02 mg/kg Fenbutatin hidróxido 0.05 mg/kg Flusilazol 0.01 mg/kg Penconazol 0.05 mg/kg Quintoceno 0.1 mg/kg Tebuconazol 0.05 mg/kg Vinclozolin 0.05 mg/kg
	Codex Alimentarius – Residuos de Medicamentos Veterinarios en Alimentos	Clortetraciclina/Oxitetraciclina/Tetraciclina: 200 µg/kg (músculo), 1200 µg/kg (riñón), 600 µg/kg (hígado) Diclazuril: 500 µg/kg (músculo), 1000 µg/kg (Grasa/Piel), 2000 µg/kg (riñón), 3000 µg/kg (hígado) Flubendazol: 200 µg/kg (músculo), 500 µg/kg (hígado) Levamisol: 10 µg/kg (músculo); 10 µg/kg (Grasa), 10 µg/kg (riñón), 100 µg/kg (hígado)

Descripción	Referencia	Parámetros de Análisis
Carne de pavo	Codex Alimentarius – Residuos de Medicamentos Veterinarios en Alimentos	Neomicina: 500 µg/kg (grasa); 10000 µg/kg (riñón); 500 µg/kg (hígado); 500 µg/kg (músculo) Sarafloxacin: 20 µg/kg(grasa); 80 µg/kg (riñón); 80 µg/kg (hígado); 10 µg/kg (músculo)
Productos procesados de aves	Reglamento Técnico DGNTI-COPANIT (Panamá) 33-2007 (modificó el Reglamento Técnico DGNTI-COPANIT (Panamá) 33-480-2000) - Carne de aves, pollo, gallina y gallo procesado listo para cocinar (crudo), entero y en cortes, y sus menudos	Recuento Total Mesófilos Aeróbicos (ufc/g): $\leq 1 \times 10^6$ (Pollo Procesado Crudo, listo para cocinar), $60\% \leq 1 \times 10^5$ y $100\% \leq 1 \times 10^6$ (Pollo precocido); $\leq 5 \times 10^5$ (Pollo totalmente cocido) Salmonella (en 25 g): 23% máx. positivo (Pollo Procesado Crudo, listo para cocinar); 12% máx. positivo (Pollo precocido); Ausencia (Pollo totalmente cocido) E.coli (ufc/g), (NMP/g): $\leq 1 \times 10^3$ (Pollo Procesado Crudo, listo para cocinar); $100\% \leq 1 \times 10^3$ y $40\% \leq 1 \times 10^2$ (Pollo precocido); Ausencia ó < 3 NMP/g (Pollo totalmente cocido) Residuos de Medicamentos Veterinarios o de Plaguicidas (ver carne de aves)
	Reglamento CE 2073/05 (otros productos procesados de aves no listos para su consumo)	Recuento Total de Bacterias: $n=5$, $c=2$, $m=5 \times 10^5$, $M=5 \times 10^6$ ufc/g Salmonella: $n=5$, $c=0$, $m=$ ausencia en 10 g, $M=$ ausencia en 10 g E. coli $n=5$, $c=2$, $m=500$ ufc/g o cm^2 , $M=5000$ ufc/g o cm^2 S. aureus: $n=5$, $c=1$, $m=5 \times 10^2$, $M=5 \times 10^3$ ufc/g
		Antibióticos (ver DE 275 de 1983 para tolerancias) Cloranfenicol (ver DE 275 de 1983 para tolerancias) Metales Pesados (ver DE 275 de 1983 para tolerancias) Organo Clorados (ver DE 275 de 1983 para tolerancias) Organo Fosforados (ver DE 275 de 1983 para tolerancias) PCB'S (ver DE 275 de 1983 para tolerancias) Sulfamidas (ver DE 275 de 1983 para tolerancias) Hormonas (ver DE 275 de 1983 para tolerancias)
		Albendazol (antihelmíntico) (ver Codex Alimentarius para tolerancias) Ivermectina (antihelmíntico) (ver codex alimentarius para tolerancias)
Carne de bovinos cruda	Decreto Ejecutivo No. 275 de 29 de noviembre de 1983 y Programa Nacional de Residuos Tóxicos (MINSa)	E. coli 0157:H7: ausencia
	Programa Nacional de Residuos Tóxicos (MINSa)	Salmonella: $n = 5$, $c = 0$, $m = 0$
	USA Code of Federal Regulations y Programa Nacional de Residuos Tóxicos (MINSa)	
	ICMSF y Programa Nacional	

Descripción	Referencia	Parámetros de Análisis
	de Residuos Tóxicos (MINSA)	
	ICMSF	Recuento Total de Bacterias: n=5, c=3, m=5x10 ⁵ , M=10 ⁷
	CODEX STAN 193-1995	Plomo: 0,1 mg/kg
Codex Alimentarius Residuos de Medicamentos Veterinarios en Alimentos		<p>Abamectin: 100 µg/kg (grasa); 100 µg/kg (hígado); 50 µg/kg (riñón)</p> <p>Acetato de trembolona: 10 µg/kg (hígado)</p> <p>Bencilpenicilina/Bencilpenicilina procaínica: 50 µg/kg (hígado); 50 µg/kg (riñón)</p> <p>Ceptiofur: 2000 µg/kg (grasa); 2000 µg/kg (hígado); 6000 µg/kg (riñón)</p> <p>Ciflutrin: 200 µg/kg (grasa); 20 µg/kg (hígado); 20 µg/kg (riñón)</p> <p>Cihalotrin: 400 µg/kg (grasa); 20 µg/kg (hígado); 20 µg/kg (riñón)</p> <p>Cipermetrina y alfa-cipermetrina: 1000 µg/kg (grasa); 50 µg/kg (hígado); 50 µg/kg (riñón)</p> <p>Clenbuterol: 200 µg/kg (músculo); 200 µg/kg (grasa); 600 µg/kg (hígado); 600 µg/kg (riñón)</p> <p>Clortetraciclina/Oxitetraciclina/Tetraciclina: 200 µg/kg (músculo); 600 µg/kg (hígado); 1200 µg/kg (riñón)</p> <p>Closantel: 1000 µg/kg (músculo); 3000 µg/kg (grasa); 1000 µg/kg (hígado); 3000 µg/kg (riñón)</p> <p>Danofloxacina: 200 µg/kg (músculo); 100 µg/kg (grasa); 400 µg/kg (hígado); 400 µg/kg (riñón)</p> <p>Deltametrin: 30 µg/kg (músculo); 500 µg/kg (grasa); 50 µg/kg (hígado); 50 µg/kg (riñón)</p> <p>Dihidroestreptomicina/Estreptomicina: 600 µg/kg (músculo); 600 µg/kg (grasa); 600 µg/kg (hígado); 1000 µg/kg (riñón)</p> <p>Diminazina: 500 µg/kg (músculo); 12000 µg/kg (hígado); 6000 µg/kg (riñón)</p> <p>Doramectin: 10 µg/kg (músculo); 150 µg/kg (grasa); 100 µg/kg (hígado); 30 µg/kg (riñón)</p> <p>Eprinomectin: 100 µg/kg (músculo); 250 µg/kg (grasa); 2000 µg/kg (hígado); 300 µg/kg (riñón)</p> <p>Espectinomicina: 500 µg/kg (músculo); 2000 µg/kg (grasa); 2000 µg/kg (hígado); 5000 µg/kg (riñón)</p> <p>Espiramicina: 200 µg/kg (músculo); 300 µg/kg (grasa); 600 µg/kg (hígado); 300 µg/kg (riñón)</p>

Descripción	Referencia	Parámetros de Análisis
		Febantel/Fenbendazol/Oxfendazol: 100 µg/kg (músculo); 100 µg/kg (grasa); 500 µg/kg (hígado); 100 µg/kg (riñón) Fluazuron: 200 µg/kg (músculo); 7000 µg/kg (grasa); 500 µg/kg (hígado); 500 µg/kg (riñón) Flumequina: 500 µg/kg (músculo); 1000 µg/kg (grasa); 500 µg/kg (hígado); 3000 µg/kg (riñón) Gentamicina: 100 µg/kg (músculo); 100 µg/kg (grasa); 2000 µg/kg (hígado); 5000 µg/kg (riñón) Imidocarb: 300 µg/kg (músculo); 50 µg/kg (grasa); 1500 µg/kg (hígado); 2000 µg/kg (riñón) Isometamidio: 100 µg/kg (músculo); 100 µg/kg (grasa); 500 µg/kg (hígado); 1000 µg/kg (riñón) Ivermectina: 40 µg/kg (grasa); 100 µg/kg (hígado) Levamisol: 10 µg/kg (músculo); 10 µg/kg (grasa); 100 µg/kg (hígado); 10 µg/kg (riñón) Moxidectin: 20 µg/kg (músculo); 500 µg/kg (grasa); 100 µg/kg (hígado); 50 µg/kg (riñón) Neomicina: 500 µg/kg (músculo); 500 µg/kg (grasa); 500 µg/kg (hígado); 10000 µg/kg (riñón) Pirlimicina: 100 µg/kg (músculo); 100 µg/kg (grasa); 1000 µg/kg (hígado); 400 µg/kg (riñón) Tiabendazol: 100 µg/kg (músculo); 100 µg/kg (grasa); 100 µg/kg (hígado); 100 µg/kg (riñón) Tilmicosin: 100 µg/kg (músculo); 100 µg/kg (grasa); 1000 µg/kg (hígado); 300 µg/kg (riñón) Triclabendazol: 200 µg/kg (músculo); 100 µg/kg (grasa); 300 µg/kg (hígado); 300 µg/kg (riñón) Zeranol: 2 µg/kg (músculo); 10 µg/kg (hígado)
Carne de bovino separada mecánicamente y carne	ICMSF y Reglamento CE 1441/2007	Salmonella: n=5, c=0, m=ausencia, M=ausencia en 25 g
	ICMSF y Reglamento CE 1441/2007	Recuento de colonias aerobias: n=5, c=2, m=5x10 ⁵ ufc/g, M=5x10 ⁶ ufc/g
	Reglamento CE 1441/2007	E. coli: n=5, c=2, m=50 ufc/g, M=500 ufc/g
	USA Code of Federal Regulations	E. coli O157:H7: ausencia
	OIE y USA Code of Federal	Material de riesgo especificado (SRM:

Descripción	Referencia	Parámetros de Análisis
molida	Regulations	Specified Risk Materials)
Carne de porcinos cruda	Decreto Ejecutivo No. 275 de 29 de noviembre de 1983 y Programa Nacional de Residuos Tóxicos (MINSA)	Antibióticos (ver DE 275 de 1983 para tolerancias) Hormonas (ver DE 275 de 1983 para tolerancias) Sulfamidas (ver DE 275 de 1983 para tolerancias)
	Programa Nacional de Residuos Tóxicos (MINSA)	Albendazol (ver Codex Alimentarius para tolerancias) Ivermectina (antihelmíntico) (ver codex alimentarius para tolerancias)
	ICMSF, Reglamento CE 2073/05, Rgto. CE 1441/2007 y Programa Nacional de Residuos Tóxicos (MINSA)	Salmonella: n = 5, c = 0, m = 0
	Decreto Ejecutivo No. 275 de 29 de noviembre de 1983	Organo Clorados (ver DE 275 de 1983 para tolerancias) Organo Fosforados (ver DE 275 de 1983 para tolerancias) (ver DE 275 de 1983 para tolerancias) Metales Pesados (ver DE 275 de 1983 para tolerancias)
	ICMSF, Reglamento CE 2073/05, Rgto. CE 1441/2007	Recuento Total de Bacterias: n=5, c=3, m=5x10 ⁵ , M=10 ⁷
	Reglamento CE 2073/05, Rgto. CE 1441/2007	E. coli: n=5, c=2, m=50, M=500 ufc/g
	Real Decreto 1916/1997	S. aureus: n=5, c=2, m=10 ² , M=10 ³ ufc/g
	US Code of Federal Regulations	Cisticercos de <i>Taenia solium</i> : ausencia <i>Trichinella spiralis</i> : ausencia
	CODEX STAN 193-1995	Plomo: 0,1 mg/kg
	Codex Alimentarius - Residuos de Medicamentos Veterinarios en alimentos	Azaperona: 60 µg/kg (músculo); 60 µg/kg (grasa); 100 µg/kg (hígado); 100 µg/kg (riñón) Bencilpenicilina/Bencilpenicilina procaínica: 50 µg/kg (músculo); 50 µg/kg (hígado); 50 µg/kg (riñón) Carazolol: 5 µg/kg (músculo); 5 µg/kg (grasa/piel); 25 µg/kg (hígado); 25 µg/kg (riñón) Ceptiofur: 1000 µg/kg (músculo); 2000 µg/kg (grasa); 2000 µg/kg (hígado); 6000 µg/kg (riñón) Cihalotrin: 20 µg/kg (músculo); 400 µg/kg (grasa); 20 µg/kg (hígado); 20 µg/kg (riñón) Clortetraciclina/Oxitetraciclina/Tetraciclina: 200 µg/kg (músculo); 600 µg/kg (hígado); 1200 µg/kg (riñón) Danofloxacina: 100 µg/kg (músculo); 100 µg/kg (grasa); 50 µg/kg (hígado); 200 µg/kg (riñón) Dihidroestreptomicina/Estreptomicina: 600 µg/kg (músculo); 600 µg/kg (grasa); 600 µg/kg (hígado); 1000 µg/kg (riñón) Doramectin: 5 µg/kg (músculo); 150 µg/kg

Descripción	Referencia	Parámetros de Análisis
		(grasa); 100 µg/kg (hígado); 30 µg/kg (riñón) Espectinomicina: 500 µg/kg (músculo); 2000 µg/kg (grasa); 2000 µg/kg (hígado); 5000 µg/kg (riñón) Espiramicina: 200 µg/kg (músculo); 300 µg/kg (grasa); 600 µg/kg (hígado); 300 µg/kg (riñón) Febantel/Fenbendazol/Oxfendazol: 100 µg/kg (músculo); 100 µg/kg (grasa); 500 µg/kg (hígado); 100 µg/kg (riñón) Flubendazol: 10 µg/kg (músculo); 10 µg/kg (hígado) Flumequina: 500 µg/kg (músculo); 1000 µg/kg (grasa); 500 µg/kg (hígado); 3000 µg/kg (riñón) Foxim: 50 µg/kg (músculo); 400 µg/kg (grasa); 50 µg/kg (hígado); 50 µg/kg (riñón) Gentamicina: 100 µg/kg (músculo); 100 µg/kg (grasa); 2000 µg/kg (hígado); 5000 µg/kg (riñón) Ivermectina: 20 µg/kg (grasa); 15 µg/kg (hígado) Levamisol: 10 µg/kg (músculo); 10 µg/kg (grasa); 100 µg/kg (hígado); 10 µg/kg (riñón) Lincomicina: 200 µg/kg (músculo); 100 µg/kg (grasa); 500 µg/kg (hígado); 1500 µg/kg (riñón) Neomicina: 500 µg/kg (músculo); 500 µg/kg (grasa); 500 µg/kg (hígado); 10000 µg/kg (riñón) Tiabendazol: 100 µg/kg (músculo); 100 µg/kg (grasa); 100 µg/kg (hígado); 100 µg/kg (riñón) Tilmicosin: 100 µg/kg (músculo); 100 µg/kg (grasa); 1500 µg/kg (hígado); 1000 µg/kg (riñón)
Embutidos cocidos (aves, porcinos, bovinos, etc.)	Reglamento Técnico DGNTI-COPANIT (Panamá) 08-241-98	No se permiten colorantes artificiales Ác. Ascórbico <0,05% Nitratos <0,05% Nitritos <0,02% Fosfatos <0,5% MSG <0,2% Ác. Sórbico <0,1% Eritorbato de sodio <0,2% Recuento total de bacterias: 100 000/g máximo Salmonella: ausente en 25g S. aureus: 1/0,01g máximo C. perfringens: 5/0,01g máximo

Descripción	Referencia	Parámetros de Análisis
		E. coli 0157:H7: 0 Enterobacterias: 10 000/g máximo L. monocytogenes: 0 C. jejuni: 0
Embutidos crudos (aves, porcinos, bovinos, etc.)	Reglamento Técnico DGNTI-COPANIT (Panamá) 08-241-98	No se permiten colorantes artificiales Ác. Ascórbico <0,05% Nitratos <0,05% Nitritos <0,02% Fosfatos <0,5% MSG <0,2% Ác. Sórbico <0,1% Eritorbato de sodio <0,2% Recuento total de bacterias: 200 000/g máximo Salmonella: ausente en 10 g S. aureus: 1/0,01g máximo C. perfringens: 1/0,001g máximo E. coli O157:H7: 0 Enterobacterias: 50 000/g máximo L. monocytogenes: 0 C. jejuni: 0
Salchichas (aves, porcinos, bovinos, etc.)	Reglamento Técnico DGNTI-COPANIT (Panamá) 34-305-00	No se permiten colorantes artificiales Humedad: máximo 65% (enlatados), máximo 60% (no enlatados) Proteínas: mínimo 12% Grasas: máximo 35% Carbohidratos: máximo 5% Cenizas: máximo 3,8% Fosfatos: máximo 0,5% Recuento total de bacterias: <100 000/g Salmonella: ausente en 25g S. aureus: <1/0,01g C. perfringens: <1/0,01g E. coli 0157:H7: 0 Enterobacterias: <10 000/g L. monocytogenes: 0 C. jejuni: 0 Aditivos: ver Reglamento Técnico DGNTI-COPANIT (Panamá) de Embutidos 08-241-98
Carne Luncheon	CODEX STAN 89-1981	Nitrito, sales de potasio y/o de sodio 125 mg/kg en total de nitrito, expresados en nitrito sódico Acido ascórbico o isoascórbico y sus sales de sodio: 500 mg/kg (expresados en ácido ascórbico) Glucono-delta-lactona 3 000 mg/kg Fosfatos (los presentes naturalmente más los añadidos: 8 000 mg/kg (expresados en P2O5)

Descripción	Referencia	Parámetros de Análisis
		(Mono-, di- y poli-) fosfatos de sodio y de potasio añadidos: 3 000 mg/kg (expresados en P ₂ O ₅) solos o mezclados Eritrosina (CI 45430) para compensar pérdida de color (sólo para el producto con aglutinante): 15 mg/kg Plomo (Pb) 0,5 mg/kg Estaño (Sn): para productos en envases de hojalata 200 mg/kg Estaño (Sn): para productos en otros envases 50 mg/kg
Carne Corned Beef	CODEX STAN 88-198	Proteína: 21% m/m mínimo Nitrito, sales de potasio y/o de sodio: 50 mg/kg en total de nitrito, expresado en nitrito sódico Acido ascórbico o isoascórbico y sus sales de sodio: 300 mg/kg (expresados en ácido ascórbico) Plomo (Pb) 1 mg/kg Estaño (Sn) para productos en envases de hojalata: 200 mg/kg Estaño (Sn) para productos en otros envases: 50 mg/kg
Carne Picada Curada Cocida	CODEX STAN 193-1995	Estaño (Sn) para productos en envases de hojalata: 200 mg/kg Estaño (Sn) para productos en otros envases 50 mg/kg
Carnes deshidratadas y productos de origen animal deshidratados (sangre, plasma o gelatina deshidratados, charqui,	ICMSF USA Code of Federal Regulations	Staph. aureus: n=5, c=1, m=10 ² , M=10 ⁴ C. perfringens: n=5, c=1, m=10 ² , M=10 ⁴ Salmonella: n=10, c=0, m=0 L. monocytogenes: ausencia

Descripción	Referencia	Parámetros de Análisis
jerky)		
Despojos crudos congelados	ICMSF	Recuento Total de Bacterias: n=5, c=3, m=5x10 ⁵ , M=10 ⁷ Salmonella: n = 5, c = 0, m = 0
	CODEX STAN 193-1995	Plomo: 0,5 mg/kg
Colágeno	Reglamento CE No. 1441/2007	Salmonella: n=5, c=0, m=Ausencia en 25 g, M=Ausencia en 25 g
Gelatinas comestibles	Decisión Comisión 1999/724/CE, Reglamento CE 2073/05, Rgto. CE 1441/2007	Salmonella: n=5, c=0, m=Ausencia en 25 g, M=Ausencia en 25 g
		Aerobios mesófilos: 10 ³ ufc/g
		Coliformes (30°C): 0/g
		Coliformes (44,5°C): 0/10g
		S. aureus: ausencia en 1 g
		Clostridium perfringens: 0 ufc/g
		Anaerobios sulfito reductores (sin producción de gas): 10 ufc/g
		Enterobacterias: Ausencia en 1g
		Arsénico: 1 ppm
		Plomo: 5 ppm
		Cadmio: 0,5 ppm
		Mercurio: 0,15 ppm
		Cromo: 10 ppm
		Cobre: 30 ppm
		Zinc: 50 ppm
		Humedad (105 °C) 15 %
		Cenizas (550 °C) 2 %
Sulfitos SO ₂ (Reith Williems) 50 ppm		
Peróxidos (H ₂ O ₂) [Farmacopea Europea 1986 (V ₂ O ₂)] 10 ppm		
Jamones (cerdo u otras especies)	Reglamento Técnico DGNTI-COPANIT (Panamá) DGNTI-COPANIT 62-2001	Ác. Ascórbico: 0,05%
		Nitrato de potasio y/o sodio (crudo-curado): 0,05%
		Nitrito de potasio y/o sodio: 0,02%
		Fosfatos:0,5%
		Glutamato monosódico: 0,2%
		Ác. Sórbico: 0,1%
		Eritorbato: 0,2%
		Humedad: <77%
		Proteínas: >14%
		Grasas <15%
		Cenizas <3,8%
		Recuento total de bacterias: < 1000/g (crudo-curado), <100000/g (procesado/prensado)
		Salmonella: ausente/10g
		S. aureus: 1/0,01g máximo
		Clostridium perfringens: 0
E. coli 0157:H7: 0		

Descripción	Referencia	Parámetros de Análisis
		Enterobacterias: < 50 000 (crudo-curado), < 10 000 (procesado/prensado)
		L. monocytogenes: 0
		C. jejuni: 0

Descripción	Referencia	Parámetros de Análisis
Jamón Curado Cocido	CODEX STAN 96-1981	Proteínas de carne en el producto sin grasa: = 16,5% mínimo
		Nitrito, sales de potasio y/o de sodio 125 mg/kg en total de nitrito, expresados en nitrito sódico
		Acido ascórbico o isoascórbico y sus sales de sodio: 500 mg/kg (expresados en ácido ascórbico)
		Fosfatos (los presentes naturalmente más los añadidos): 8 000 mg/kg (expresados en P ₂ O ₅)
		(Mono-, di- y poli-) fosfatos de sodio y potasio añadidos: 3 000 mg/kg (expresados em P ₂ O ₅) solos o mezclados
		Alginatos de potasio y/o de sodio: 10 mg/kg
	Plomo (Pb): 0,5 mg/kg	
	CODEX STAN 193-1995	Estaño (Sn) para productos en envases de hojalata: 200 mg/kg Estaño (Sn) para productos en otros envases 50 mg/kg
Espaldilla de Cerdo Curada Cocida	CODEX STAN 193-1995	Estaño (Sn) para productos en envases de hojalata: 200 mg/kg Estaño (Sn) para productos en otros envases 50 mg/kg
Carne de caballo	Codex Alimentarius - Residuos de Medicamentos Veterinarios en alimentos	Clenbuterol: 200 µg/kg (grasa); 600 µg/kg (riñón); 600 µg/kg (hígado); 200 µg/kg (músculo) Febantel/Fenbendazol/Oxfendazol: 100 µg/kg (grasa); 100 µg/kg (riñón); 500 µg/kg (hígado); 100 µg/kg (músculo)
Carne de conejo	Codex Alimentarius - Residuos de Medicamentos Veterinarios en alimentos	Diclazuril: 1000 µg/kg (grasa); 500 µg/kg (músculo); 3000 µg/kg (hígado); 2000 µg/kg (riñón)
Carne de cabra	Codex Alimentarius - Residuos de Medicamentos Veterinarios en alimentos	Febantel/Fenbendazol/Oxfendazol: 100 µg/kg (músculo); 500 µg/kg (hígado); 100 µg/kg (riñón); 100 µg/kg (grasa) Foxim: 50 µg/kg (músculo); 400 µg/kg (grasa); 50 µg/kg (riñón); 50 µg/kg (hígado) Neomicina: 500 µg/kg (hígado); 500 µg/kg (músculo); 10000 µg/kg (riñón); 500 µg/kg (grasa) Tiabendazol: 100 µg/kg (grasa); 100 µg/kg (riñón); 100 µg/kg (hígado); 100 µg/kg (músculo)
Carne de ciervo / venado	Codex Alimentarius - Residuos de Medicamentos Veterinarios en alimentos	Moxidectin: 500 µg/kg (grasa); 20 µg/kg (músculo); 100 µg/kg (hígado); 50 µg/kg (riñón)
Carne de oveja	Codex Alimentarius - Residuos de Medicamentos	Cihalotrin: 400 µg/kg (grasa); 50 µg/kg (hígado); 20 µg/kg (músculo); 20 µg/kg

Descripción	Referencia	Parámetros de Análisis
	Veterinarios en alimentos	(riñón) Cipermetrina y alfa-cipermetrina: 1000 µg/kg (grasa); 50 µg/kg (hígado); 50 µg/kg (músculo); 50 µg/kg (riñón) Clortetraciclina/Oxitetraciclina/Tetraciclina: 600 µg/kg (hígado); 200 µg/kg (músculo); 1200 µg/kg (riñón) Closantel: 2000 µg/kg (grasa); 1500 µg/kg (hígado); 1500 µg/kg (músculo); 5000 µg/kg (riñón) Deltametrin: 500 µg/kg (grasa); 50 µg/kg (hígado); 30 µg/kg (músculo); 50 µg/kg (riñón) Diccianil: 200 µg/kg (grasa); 125 µg/kg (hígado); 150 µg/kg (músculo); 125 µg/kg (riñón) Diclazuril: 1000 µg/kg (grasa); 3000 µg/kg (hígado); 500 µg/kg (músculo); 2000 µg/kg (riñón) Dihidroestreptomicina/Estreptomicina: 600 µg/kg (grasa); 600 µg/kg (hígado); 600 µg/kg (músculo); 1000 µg/kg (riñón) Espectinomicina: 2000 µg/kg (grasa); 2000 µg/kg (hígado); 500 µg/kg (músculo); 5000 µg/kg (riñón) Febantel/Fenbendazol/Oxfendazol: 100 µg/kg (grasa); 500 µg/kg (hígado); 100 µg/kg (músculo); 100 µg/kg (riñón) Flumequina: 1000 µg/kg (grasa); 500 µg/kg (hígado); 500 µg/kg (músculo); 3000 µg/kg (riñón) Foxim: 400 µg/kg (grasa); 50 µg/kg (hígado); 50 µg/kg (músculo); 50 µg/kg (riñón) Ivermectina: 20 µg/kg (grasa); 15 µg/kg (hígado) Levamisol: 10 µg/kg (grasa); 100 µg/kg (hígado); 10 µg/kg (músculo); 10 µg/kg (riñón) Moxidectin: 500 µg/kg (grasa); 100 µg/kg (hígado); 50 µg/kg (músculo); 50 µg/kg (riñón) Neomicina: 500 µg/kg (grasa); 500 µg/kg (hígado); 500 µg/kg (músculo); 10000 µg/kg (riñón) Tiabendazol: 100 µg/kg (grasa); 100 µg/kg (hígado); 100 µg/kg (músculo); 100 µg/kg (riñón) Tilmicosin: 100 µg/kg (grasa); 1000 µg/kg (hígado); 100 µg/kg (músculo); 300 µg/kg (riñón)

Descripción	Referencia	Parámetros de Análisis
		Triclabendazol: 100 µg/kg (grasa); 100 µg/kg (hígado); 100 µg/kg (músculo); 100 µg/kg (riñón)

ANEXO 8: CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES PARA PROYECTO FINAL DE GRADUACIÓN.

Descripción de Actividades	MES		
	Enero	Febrero	
	Marzo		
Revisión de la literatura científica	X	X	
Revisión de estadísticas y resultados de análisis para microbiología	X	X	
Identificación de métodos de detección molecular para patógenos	X		
Búsqueda de información de genes de detección de <i>Escherichia coli</i>		X	
Revisión de manuales de procedimiento de AUPSA	X	X	
Elaboración de gráficos y tablas			X
Lista de seguimiento de pendientes			X
Envío de trabajo al tutor de proyecto			X