



Efecto de los ácidos orgánicos sobre la presencia de *Salmonella* spp. en harina de pescado

Effect of organic acids on the presence of *Salmonella* spp. in fishmeal

Fredy Crispín-Sánchez*; Raúl Porturas Olaechea; Wilfredo Vásquez Quispesivana

Facultad de Ingeniería Pesquera, Departamento de Acuicultura e Industrias Pesqueras, Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima 12, La Molina, Lima-Perú.

RESUMEN

El Perú es el principal productor de harina de pescado del mundo y su principal uso es en la formulación de alimentos balanceados para animales, la recontaminación por *Salmonella* spp. uno de los problemas más importantes. Para corregir la presencia de *Salmonella* spp, una alternativa es tratarlo térmicamente, que baja la calidad de la harina de pescado. Una alternativa sería el tratamiento con ácidos orgánicos. Asimismo, compararlo contra el formaldehído que es muy eficaz contra bacterias, pero a la vez muy peligroso para la salud pública. Harina de pescado se esterilizó para eliminar cualquier presencia de microorganismos extraños y luego se inoculó 105 UFC/g de *Salmonella* spp, para después tratar con 2 productos comerciales a base de ácido propiónico y formaldehído como es SAL ZAP® F (con formaldehído) y SALZAP® FISH (sin formaldehído) a dosis de 1, 2, 3, 4, 5 y 6 kg/t donde se evaluó el tiempo en el que el inoculó de *Salmonella* spp es cero. Los resultados de estudios indicaron que el SAL ZAP® F y SALZAP® FISH son efectivos inmediatamente para ausencia de *Salmonella* spp a 3 y 5 kg/t.

Palabras clave: harina de pescado; *Salmonella* spp.; ácidos orgánicos; ácido propiónico; formaldehído.

ABSTRACT

Perú is the main producer of fishmeal in the world and its main use is in the formulation of feed for animals, recontamination by *Salmonella* spp. One of the most important problems. To correct the presence of *Salmonella* spp, an alternative is to treat it thermally, which lowers the quality of fishmeal. An alternative would be the treatment with organic acids. Also, compare it against formaldehyde that is very effective against bacteria, but at the same time very dangerous for public health. A chemical treatment was performed; where it was first sterilized to eliminate any presence of foreign microorganisms and 105 CFU / g of *Salmonella* spp were inoculated, which were treated with 2 commercial products based on propionic acid and formaldehyde such as SAL ZAP® F (with formaldehyde) and SALZAP® FISH (without formaldehyde) at doses of 1, 2, 3, 4, 5 and 6 kg / t. where the time in which the inoculum of *Salmonella* spp is zero was evaluated. The results of studies indicated that SAL ZAP® F and SALZAP® FISH are effective immediately for the absence of *Salmonella* spp at 3 and 5 kg/t.

Keywords: fishmeal; *Salmonella* spp.; organic acids; formaldehyde.

1. Introducción

El Perú es el principal productor de harina de pescado del mundo, la cual se obtiene luego de retirarle todo el contenido de agua y gran parte de sus grasas y aceites al pescado, quedando luego de este proceso la proteína como parte sólida, la cual es secada y luego molida al grado de una harina (IFFO, 2016). La harina de pescado en el Perú se fabrica a partir de la anchoveta (*Engraulis ringens*), que es la única especie permitida por el Ministerio de la Producción para este fin. El principal uso de la harina de pescado es la formulación de

alimentos balanceados para el desarrollo de actividades, como acuicultura (la principal), avicultura, ganadería, entre otros (SNP, 2019). La salmonella es uno de los patógenos zoonóticos transmitidos por los alimentos más importantes, con un impacto económico y en la salud significativo tanto en humanos como en animales. El control de *Salmonella* en alimentos para animal es importante, principalmente para proteger la cadena alimenticia humana de la contaminación por *Salmonella* derivada de animales infectados (Tomčić *et al.*, 2018). Durante los últimos años se ha reportado un

incremento en el uso de ácidos orgánicos como aditivos para alimentos balanceados, esto se fortalece con la prohibición europea de los promotores del crecimiento de antibióticos en 2006, con el fin de evitar el riesgo de desarrollar resistencia cruzada de patógenos, pero también para evitar que se acumularan sus residuos (Pavlović *et al.*, 2016)

Una forma de controlar la contaminación es el tratamiento térmico, la cual baja la calidad del ingrediente y/o la adición de productos químicos durante la producción de ingredientes (Ng y Koh, 2017).

Harina de pescado es el producto obtenido por molienda y secado de pescados enteros, de partes de éstos o de residuos de la industria conservera, a los que se puede haber extraído parte del aceite. El proceso normal de fabricación se inicia con el picado o molido del pescado, seguido de su cocción a 100°C durante unos 20 minutos. Posteriormente el producto se prensa y centrifuga para extraer parte del aceite. En el proceso se obtiene una fracción soluble que puede comercializarse independientemente (solubles de pescado) o reincorporarse a la harina. El último paso es el secado de la harina hasta un máximo de un 10% de humedad (FEDNA, 2019). El valor nutritivo de la harina depende en primer lugar del tipo de pescado. Así, la harina de pescado tiene un contenido mayor en proteína (65-72%), y menor en cenizas (10-20%). Esta última tiene un contenido en grasa inferior (5-9%). Por otra parte, la frescura del producto y la temperatura y condiciones de almacenamiento afectan a su deterioro por actividad bacteriana, enzimática u oxidación, y, como consecuencia, a su contenido en peróxidos, en nitrógeno volátil (TVN) y en aminos biogénicos tóxicos. Además, temperaturas altas y tiempos prolongados de secado disminuyen la disponibilidad de aminoácidos por formación de productos de Maillard (Madrid y Madrid, 1999). De acuerdo a las características mencionadas hay una variación de tipos de harina, las que muestran en la Tabla 1.

La calidad microbiológica de la harina de pescado se evalúa con la ausencia de *Salmonella* spp. en 25 g de harina de pescado (Ramos y Mamani, 2018) según la resolución de la Unión Aduanera Nro.317 capítulo 34, los cuales constan como requisitos microbiológicos para exportación. La presencia de lotes (suma de 50 toneladas) con presencia de salmonella, se les considera "lote de reproceso", la cual es agrupada y puesta a disposición para ser sometida a un tratamiento

térmico o químico. con la finalidad de destruir o disminuir la carga microbiana (SANIPES, 2011). Las operaciones de reproceso se hacen bajo la supervisión de una entidad de apoyo (EA), autorizada por SANIPES. Las EAs presentan el procedimiento a seguir, tipo de reproceso (térmico o químico). En caso de ser químico, deben indicar la dosis y el tiempo de espera antes de efectuarse el muestreo. Las dosis a utilizarse en los reprocesos son las indicadas en la ficha técnica del bactericida emitido por el laboratorio fabricante. Los productos reprocesados, no podrán ser comercializados hasta no ser autorizados por SANIPES.

Salmonella es un género de la familia Enterobacteriaceae. Estas son bacterias entéricas (es decir, asociadas con el intestino) son gram-negativas, usualmente móviles, facultativas anaeróbicas y bacilos que no forman esporas. Crece a temperaturas entre 8 y 45 °C en un rango de pH de 4-9 y requiere actividades acuáticas (*Aw*) por encima de 0,94 (Baik *et al.*, 1996). Las salmonelas son sensibles al calor y generalmente se matan a temperaturas de 70 °C o más. Las salmonelas son resistentes al secado y pueden sobrevivir durante años en el polvo y la suciedad. La mayoría de los informes recurrentes de infecciones por aislamientos humanos en los Estados Unidos son de 5 serotipos, a saber, *S. Typhimurium* (19%), *S. Enteritidis* (14%), *S. Newport* (9%), *S. Heidelberg* (6%) y *S. Javiana* (5%). *S. Typhi* es estrictamente un patógeno humano y causa la fiebre tifoidea (Mani-López *et al.*, 2012).

Algunas serovariedades (por ejemplo, *S. typhi*, *S. paratyphi A.*, *S. paratyphi C* y *S. sendai*) están adaptadas al hombre como hospedador y generalmente causan síndrome septicémico-tifoideo en los seres humanos. Las demás serovariedades, sin embargo, causan gastroenteritis en el hombre. La fiebre tifoidea es muy común en algunos países en desarrollo, mientras que es rara en los países desarrollados en los que la gastroenteritis causada por Salmonella se encuentra entre las causas principales de morbilidad por consumo de alimentos. Las serovariedades implicadas varían de acuerdo con la zona geográfica, pero frecuentemente incluyen a *S. typhimurium*, *S. enteritidis*, *S. heidelberg*, *S. agona*, *S. newport*, *S. infantis*, *S. panama*, *S. saint paul* y *S. welteveden*. En la actualidad *S. enteritidis* ha llegado a ser la serovariedad predominantemente responsable de la enfermedad, seguida de *S. typhimurium* (Eduardo, 2008).

Los ácidos orgánicos son compuestos orgánicos carboxílicos de fórmula estructural general R-COOH cuya acidez está asociada con su grupo carboxilo (-COOH). Son ácidos débiles porque se disocian parcialmente en agua para formar un ion hidrógeno (H+) y un ion carboxilato (-COO-). En cualquier momento, la mayoría de los ácidos orgánicos estarán presentes en solución como moléculas sindicalizadas. La cantidad de ionización/disociación se determina por la fuerza del ácido, denominada constante de disociación ácida o constante de ionización ácida (pKa). Valores de pKa se puede determinar agregando un equivalente de álcali a dos equivalentes de ácido y medir el pH resultante. El valor pKa es, por lo tanto, el valor de pH de una solución neutralizada al 50%. Cuanto menor sea el valor de pKa, más fuerte será el ácido o mayor será el grado de disociación (Lim *et al.*, 2015).

El ácido propiónico (21 CFR 184.1081) y sus sales, calcio (21 CFR 184.1221) y propionato de sodio (21 CFR 184.1784), están aprobados como sustancias GRAS para uso diverso y de uso general. Además, el calcio y los propionatos de sodio se enumeran como antimicrobianos cuando migran del material de envasado de alimentos (21 CFR 181.23). No se prescriben límites superiores para el uso de este aditivo, excepto pan y rollos, que cumplen con los estándares de identidad. El ácido propiónico a pH 5.5 inhibió el crecimiento de *Salmonella* a un valor de pH más alto que otros ácidos (pH 5.4, acético; pH 5.1, adípico; pH 4.6, succínico; pH 4.4, láctico); pH 4.3, fumárico y málico; pH 4.1, tartárico; pH 4.05, cítrico). La concentración inhibitoria mínima de propionato de sodio (0,31%) fue inferior al citrato de sodio y lactato (1,25%) para *S. Typhimurium* en jugo de pollo a 37 y 42 °C (Chung y Goepfert, 1970). A esto se observó una inhibición completa de *S. Typhimurium* (10³ CFU/g) en los cuartos delanteros de carne de oveja cuando los rocían con una mezcla de ácidos acéticos y propiónicos (1,5 + 1,5%). El ácido propiónico y sus sales tienen aplicaciones prometedoras en productos de carne y aves (Dubal *et al.*, 2004).

El mecanismo de acción de los ácidos orgánicos (Figura 1) radica en que el pH intracelular afecta el mecanismo de funcionamiento de la bacteria, lo que perturba su almacenamiento de energía (ATP), por lo que no logra la síntesis de ADN ni su reproducción. Sin embargo el mayor efecto se produce cuando el ácido se introduce en el citoplasma de la bacteria, desasociando el ácido el esfuerzo del mecanismo de compensación de la carga eléctrica de la bacteria, esto obliga a la

misma a subir en exceso los niveles de sodio-potasio y glutamato, provocando la explosión y muerte de la bacteria (Harris *et al.*, 2003).

Formaldehído es conocido como agente de cáncer ocupacional (Partanen *et al.*, 2009) y usado como aditivo donde su uso continuado e indiscriminado creó serios problemas de salud ocupacional (Morales *et al.*, 2014).

El formaldehído es el compuesto químico más simple de los aldehídos que se caracterizan por tener el grupo funcional carbonil (C=O) y un enlace con un hidrógeno. El formaldehído es un gas que cuenta con enlaces polares, su fórmula química es H₂C=O (1). Su nombre oficial es Metanal, pero la IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) lo reconoce con el nombre común formaldehído. El formol es una solución comercial de formaldehído y agua, y en algunos casos metanol (Idrobo-Avila *et al.*, 2017). El formaldehído es un producto químico potente debido a la forma en que opera en las células. El formaldehído tiene la capacidad de inactivar los constituyentes celulares como la proteína y el ácido nucleico, provocando la muerte de la célula y es más eficaz para eliminar las bacterias (Casagrande *et al.*, 2015).

El formaldehído se absorbe fácilmente por vía respiratoria, mientras que la absorción por vía cutánea es muy poco eficaz. Una vez en sangre, el formaldehído se metaboliza con rapidez a ácido fórmico y formiato, y finalmente a dióxido de carbono y agua. Entre los principales efectos físicos de la exposición prolongada tenemos: Irritación en los ojos, la piel, y las mucosas asociada con estornudos, laringoespasmos, broncoespasmos, y edemas pulmonares no cardiogénicos por exposición a gas o vapor de formaldehído (ATSDR, 1999). También lesiones gastrointestinales significativas, incluyendo úlceras, sangrado, y perforación cuando es ingerido, ya que el formaldehído es un potente cáustico causante de necrosis de coagulación y depresión del sistema nervioso central que puede conllevar a un estado de coma. La hipotensión y el estado de shock puede causar de forma secundaria lesiones gastrointestinales y acidosis severa (Idrobo-Avila *et al.*, 2017).

2. Material y métodos

2.1. Harina de pescado

La harina de pescado se recolecta de diferentes plantas de producción de la parte sur, centro y norte del Perú.

2.2. Efecto de las dosis en el tratamiento químico

La harina de pescado recolectada se dividió en dos unidades de 2 kg por unidad para cada nivel de dosificación y 4 repeticiones para hacer un total de 48 muestras. Las muestras se colocaron en bolsas de LDPE, se esterilizaron a 121 °C durante 15 min en una autoclave y se enfriaron mediante agitación manual para evitar la compactación (Correa, 2018).

Este experimento utilizó dos productos comerciales ZAP® FISH y SAL ZAP® F de Alltech Inc. (Brasil). SAL ZAP® FISH contenía 63% de dipropionato de amonio, 9% de ácido fórmico y SAL ZAP® F contenía 40% de dipropionato de amonio, 9% de ácido fórmico y 33% de formaldehído según sus fichas técnicas. El estudio investigó el efecto de 6 dosis (1, 2, 3, 4, 5 y 6 kg / t) de SAL ZAP® FISH y SAL ZAP® F, en harina de pescado inoculado previamente con 10⁵ de UFC/mL de bacteria *Salmonella* spp. También se tomó una muestra control.

A continuación, se mezclaron 50 ml de inóculo de *Salmonella* spp. con cada porción de harina de pescado para obtener una concentración final de 10⁵ UFC / mL (Casagrande et al., 2015). La harina de pescado contaminada con *Salmonella* spp. se colocó en un mezclador experimental que rocía los productos mientras los ingredientes están en rotación. Esta máquina se construyó en forma experimental tomando en cuenta lo dicho por el proveedor. Antes de agregar cada ingrediente al mezclador, el equipo se limpiaba y desinfectaba con alcohol al 96%. Todas las muestras se almacenaron en el laboratorio a temperatura ambiente durante todo el periodo de investigación. Al final de cada período, se transfirieron 25 g de cada muestra para el conteo respectivo (Mainar-Jaime et al., 2013).

El método de determinación de *Salmonella* spp. se llevó a cabo según ISO 6579: 2002 (2007), catalogado como método horizontal que consiste en una fase de pre-enriquecimiento de la muestra de prueba en un medio líquido no selectivo. Seguido de una fase de enriquecimiento selectivo, seguido de una fase final donde las colonias de *Salmonella* se cultivan en medios de cultivo sólidos y selectivos. De esta forma es posible confirmar o descartar la presencia de colonias, y realizar su caracterización mediante pruebas bioquímicas y serológicas (Linares et al., 2017) con los resultados expresados como presencia o ausencia de *Salmonella* spp. según ISO (2007).

2.3. Estadística

Los datos del recuento de unidades formadoras de colonias (UFC/ml) se analizaron mediante un análisis de varianza y medias con una comparación de un ensayo factorial 6x2. También se realizó la prueba F y se determinaron los niveles de significación al 5%. El análisis estadístico se realizó con Statgraphics Centurión®.

3. Resultados y discusión

El tratamiento realizado con SAL ZAP® FISH y SAL ZAP® F fueron efectivos para todas las dosis (1, 2, 3, 4, 5 y 6 kg/t) siendo el factor diferencial el tiempo de exposición, el cual se puede observar en la Tabla 1.

Tabla 1

Tiempo exposición (horas) de los productos SALZAP® FISH y SALZAP® F para ausencia de *Salmonella* spp en harina de pescado para un inóculo inicial de 10⁵ UFC/ml

Dosis kg/t	Tiempo de efectividad para ausencia de <i>Salmonella</i> spp. (horas)	
	Sal Zap® Fish	Sal Zap® F
1	80,1250 ± 0,3958	47,7500 ± 0,2267
2	50,8750 ± 0,0625	29,4750 ± 0,2292
3	30,4750 ± 0,1692	17,5750 ± 0,1892
4	12,5000 ± 0,1667	7,3500 ± 0,2233
5	4,1750 ± 0,0425	0,3500 ± 0,1167
6	0,4750 ± 0,1358	0,0000 ± 0,0000
7	0,0000 ± 0,0000	0,0000 ± 0,0000

La efectividad entre los dos productos se debe a la diferencia en la composición; SAL ZAP® F tiene 33% de formaldehído. Donde el formaldehído tiene mayor efectividad que el ácido propiónico y ácido fórmico (Carrique-Mas et al., 2007), lo que confirma que el tiempo de efectividad para ausencia de *Salmonella* spp siempre será más rápido, comprobándose con el SAL ZAP® F es efectivo a una dosis de 6 kg/t respecto a SAL ZAP® FISH que fue efectivo a 7 kg/t para obtener el mismo resultado (Figura 1). La diferencia en la composición SAL ZAP® FISH y SAL ZAP® F está en que este último tiene 33% de formaldehído. El formaldehído tiene mayor efectividad que el ácido propiónico y ácido fórmico lo que confirma que el tiempo de efectividad (t = 0 h) para ausencia de *Salmonella* spp para SAL ZAP® F con una dosis de 6 kg/t respecto a SAL ZAP® FISH que obtuvo 7 kg/t.

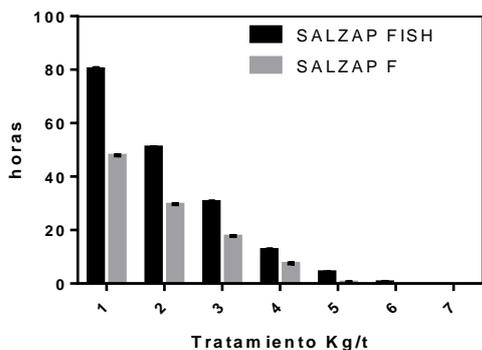


Figura 1. Comparación de los tiempos exposición (h) después de la acción de los productos SALZAP® FISH y SALZAP® F al inocular 105 UFC/mL de salmonella Spp hasta su ausencia en harina de pescado.

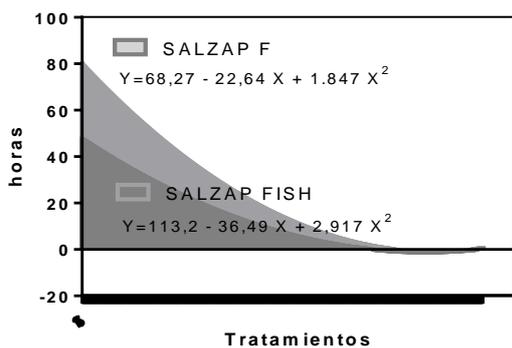


Figura 2. Relación polinómica de segundo grado entre las dosis de los tratamientos y las horas de exposición para ausencia de *Salmonella* spp. aplicando los productos SALZAP® FISH y SALZAP® F.

Se observa una relación polinómica de segundo nivel para dosis y tiempos de exposición para ausencia de *Salmonella* spp. determinándose así, las ecuaciones $Y=113,2 - 36,49 X + 2,917 X^2$ para SAL-ZAP® FISH y $Y = 68,27 - 22,64 X + 1,847 X^2$ para SAL-ZAP® F observándose así en la Figura 2.

Esto es similar a tres estudios encontrados en la literatura (Casagrande et al., 2015), (Axmann et al., 2017) y (Albuquerque et al., 1998), donde evaluarón la eficiencia de diferentes productos que contienen formaldehído y ácidos orgánicos en la eliminación del mismo patógeno en diferentes concentraciones en ingredientes animales y vegetales de piensos para aves. La acción antimicrobiana de los ácidos orgánicos se relaciona específicamente con la concentración de ácido, el pH del ambiente y el tipo de microorganismo (Harris et al., 2003).

El análisis estadístico de este experimento mostró que no hay diferencia significativa entre

las medias de SAL ZAP® FISH y SAL ZAP® F, con un nivel de confianza del 95.0% ($p < 0,05$). El tiempo de exposición y las dosis afectaron el resultado final $t=0.846256$ ($p\text{-Valor}= 0.413967$). El ANOVA estadístico mostró una media para SAL ZAP® FISH y SAL ZAP® F de 25,9464 +/- 30.228 y 14,6429 +/- 18,3074 horas de exposición respectivamente (Figura 3).

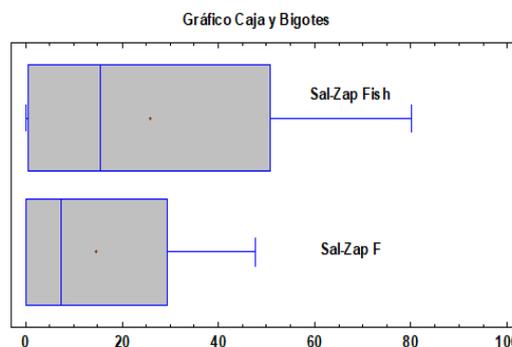


Figura 3. Intervalo de confianza para la diferencia entre las medias de SALZAP® FISH y SALZAP® F.

4. Conclusiones

Los ácidos orgánicos con y sin formaldehído son efectivos para eliminar *Salmonella* spp. aunque el uso de ácidos orgánicos representa una opción viable a sustituir el formaldehído de los tratamientos de la harina de pescado.

Las dosis letales para ausencia de *Salmonella* spp. para una población de 10^5 UFC/mL es de 7 kg/t para Sal Zap Fish y 6 kg/t para Sal Zap F.

Los resultados concluyen que el tiempo tiene una relación polinómica de segundo grado entre el tiempo de exposición para ausencia de *Salmonella* spp. (Y) y las dosis (X) obteniendo las ecuaciones $Y=113,2 - 36,49 X + 2,917 X^2$ para SAL-ZAP® FISH y $Y=68,27 - 22,64 X + 1,847 X^2$ para SAL-ZAP® F. Lo cual permitiría predecir tiempos de exposición.

Referencias bibliográficas

- Albuquerque, R.; Ito, N.M.K.; Miyaji, C.I. 1998. Tratamento de rações de aves com ácidos orgânicos: estudo da atividade bactericida e avaliação de técnicas de recuperação de *Salmonella* spp. Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science 35(6): 279-281.
- ATSDR-Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades. 1999. División de Toxicología y Medicina Ambiental. Resúmenes de Salud Pública - Formaldehído. Disponible en: https://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs111.pdf
- Axmann, S.; Kolar, V.; Adler, A.; Strnad, I. 2017. Efficiency of organic acid preparations for the elimination of naturally occurring *Salmonella* in feed material. Food Additives and Contaminants: Part A 34(11): 1915-1924.
- Baik, H.S.; Bearson, S.; Dunbar, S.; Foster, J.W. 1996. The acid tolerance response of *Salmonella typhimurium* provides

- protection against organic acids. *Microbiology* 142 (11): 3195-3200.
- Carrique-Mas, J.J.; Bedford, S.; Davies, R.H. 2007. Organic acid and formaldehyde treatment of animal feeds to control Salmonella: efficacy and masking during culture. *Journal of Applied Microbiology* 103(1): 88-96.
- Casagrande, M.F.; Cardozo, M.V.; Boarini, L.; Beraldo-Massoli, M.C.; Longo, F.A.; Vittori, J.; Schocken-Iturrino, R.P. 2015. Different dosages of SALMEX to control *Clostridium perfringens* in poultry feed ingredients. *African Journal of Microbiology Research* 9(15): 1105-1109.
- Chung, K.C.; Goepfert, J.M. 1970. Growth of salmonella at low pH. *Journal of Food Science* 35(3): 326-328.
- Correa, V.R. 2018. Validación del Método de Ensayo Rápido (MERS) para la Detección e Identificación de la especie *Salmonella enterica* en la matriz Harina de Pescado. Tesis para optar el título profesional, Universidad Ricardo Palma. Lima, Perú. 74 pp.
- Dubal, Z.; Paturkar, A.; Waskar, V.; Zende, R.; Latha, C.; Rawool, D.; Kadam, M. 2004. Effect of food grade organic acids on inoculated *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *E. coli* and *S. Typhimurium* in sheep/goat meat stored at refrigeration temperature. *Meat science* 66(4): 817-821.
- Eduardo, A.J. 2008. Estudio del comportamiento cinético de microorganismos de interés en seguridad alimentaria con modelos matemáticos. Tesis Doctoral, Universidad Autónoma de Barcelona. Barcelona, España. 282 pp.
- FEDNA. 2019. Harina de pescado. Disponible en: http://www.fundacionfedna.org/ingredientes_para_piensos/harina-de-pescado-62918
- Harris, L.; Farber, J.; Beuchat, L.; Parish, M.; Suslow, T.; Garrett, E.; Busta, F. 2003. Outbreaks associated with fresh produce: incidence, growth, and survival of pathogens in fresh and fresh-cut produce. *Comprehensive reviews in food science and food safety* 2: 78-141.
- Idrobo-Avila, E.H.; Vasquez-López, J.A.; Vargas-Cañas, R. 2017. La exposición ocupacional al formol y la nueva tabla de enfermedades laborales. *Revista de Salud Pública* 19: 382-385.
- IFFO. 2016. Informe Anual. Disponible en: <http://www.iffa.net/es/press-release/iffa-ha-publicado-su-informe-anual-que-muestra>
- ISO 6579: 2002/Amd 1: 2007. Annex D: Detection of *Salmonella* spp. in animal faeces and in environmental samples from the primary production stage.
- Jaimes Morales, J.; Pérez Díaz, K.; Severiche Sierra, C.A. 2014. Riesgos toxicológicos por la exposición ocupacional al formaldehído en salas de anatomía patológica. *Ciencia y Salud Virtual* 6(2): 141-152.
- Lim, C.; Lückstädt, C.; Webster, C.D.; Kesius, P. 2015. Organic acids and their salts. Dietary nutrients, additives, and fish health. Wiley-Blackwell, Hoboken, NJ, USA: 305-320.
- Linares, R.; Gavira, A.; Coronel, A.; Hamad, S. 2017. Extension of the *Salmonella* detection method UNE-EN ISO 6579: 2003. *Biosaia: Revista de los másteres de Biotecnología Sanitaria y Biotecnología Ambiental, Industrial y Alimentaria* 1(6).
- Madrid, V.A.; Madrid, J.M. 1999. El pescado y sus productos derivados. Mundi Prensa. Madrid, España. 416 pp.
- Mainar-Jaime, R.C.; Andrés, S.; Vico, J.P.; San Román, B.; Garrido, V.; Grilló, M.J. 2013. Sensitivity of the ISO 6579: 2002/Amd 1: 2007 standard method for detection of *Salmonella* spp. on mesenteric lymph nodes from slaughter pigs. *Journal of clinical microbiology* 51(1): 89-94.
- Mani-López, E.; García, H.S.; López-Malo, A. 2012. Organic acids as antimicrobials to control *Salmonella* in meat and poultry products. *Food Research International* 45(2): 713-721.
- Ng, W.K.; Koh, C.B. 2017. The utilization and mode of action of organic acids in the feeds of cultured aquatic animals. *Reviews in Aquaculture* 9(4): 342-368.
- Partanen, T.; Monge, P.; Wesseling, C. 2009. Causas y prevención del cáncer ocupacional. *Acta Médica Costarricense* 51(4).
- Pavlović, M.; Marković, R.; Stamen Radulović, V.; Teodorović, A.N.; Jakić-Dimić, D.; Šefer, D. 2016. The use of organic acids in animal nutrition. Paper presented at the Second International Symposium of Veterinary Medicine. 233 pp.
- Ramos, Ch.M.; Mamani, Y.L. 2018. Evaluación para el procesamiento P.O.S. y balance de materia en una empresa procesadora de harina y aceite de pescado. Tesis para optar el título profesional, Universidad Nacional De San Agustín. Arequipa, Perú. 211 pp.
- SANIPES-Servicio Nacional de Sanidad Pesquera. 2011. Instructivo: Muestreo de harina de pescado. 14 pp.
- SNP-Sociedad Nacional de Pesquería. 2019. Harina de pescado. Disponible en: <https://www.snp.org.pe/harina-de-pescado/>
- Tomičić, Z.; Čabarkapa, I.; Čolović, R.; Đuragić, O.; Tomićić, R. 2018. *Salmonella* in the feed industry: problems and potential solutions. *Journal of Agronomy* 22: 2019.

