

**UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ**

**Colegio de Ciencias Biológicas y Ambientales**

**Serogrupos de *Listeria monocytogenes* circulantes en alimentos  
que se expenden en Quito**

**Jeamileth Alejandra Razo Sandoval**

**Ingeniería en Biotecnología**

Trabajo de fin de carrera presentado como requisito  
para la obtención del título de  
Ingeniera Biotecnóloga

Quito, 20 de diciembre de 2023

# **UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ**

**Colegio de Ciencias Biológicas y Ambientales**

## **HOJA DE CALIFICACIÓN DE TRABAJO DE FIN DE CARRERA**

**Serogrupos de *Listeria monocytogenes* circulantes en alimentos  
que se expenden en Quito**

**Jeamileth Alejandra Razo Sandoval**

**Nombre del profesor, Título académico**

**Lorena Mejía Castañeda, PhD**

**Sonia Zapata Mena, PhD**

Quito, 20 de diciembre de 2023

## © DERECHOS DE AUTOR

Por medio del presente documento certifico que he leído todas las Políticas y Manuales de la Universidad San Francisco de Quito USFQ, incluyendo la Política de Propiedad Intelectual USFQ, y estoy de acuerdo con su contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo quedan sujetos a lo dispuesto en esas Políticas.

Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitalización y publicación de este trabajo en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en la Ley Orgánica de Educación Superior del Ecuador.

Nombres y apellidos: Jeamileth Alejandra Razo Sandoval

Código: 00206066

Cédula de identidad: 1752926533

Lugar y fecha: Quito, 20 de diciembre de 2023

## **ACLARACIÓN PARA PUBLICACIÓN**

**Nota:** El presente trabajo, en su totalidad o cualquiera de sus partes, no debe ser considerado como una publicación, incluso a pesar de estar disponible sin restricciones a través de un repositorio institucional. Esta declaración se alinea con las prácticas y recomendaciones presentadas por el Committee on Publication Ethics COPE descritas por Barbour et al. (2017) Discussion document on best practice for issues around theses publishing, disponible en <http://bit.ly/COPETHeses>.

## **UNPUBLISHED DOCUMENT**

**Note:** The following capstone project is available through Universidad San Francisco de Quito USFQ institutional repository. Nonetheless, this project – in whole or in part – should not be considered a publication. This statement follows the recommendations presented by the Committee on Publication Ethics COPE described by Barbour et al. (2017) Discussion document on best practice for issues around theses publishing available on <http://bit.ly/COPETHeses>.

## RESUMEN

Las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETAs) constituyen un problema a nivel mundial. Una ETA muy importante por su alta tasa de mortalidad (20-30%) y sus grupos de riesgo asociados (neonatos, ancianos, personas inmunocomprometidas, mujeres embarazadas) es la listeriosis. *Listeria monocytogenes* es un patógeno intracelular causante de esta enfermedad. La característica más importante de esta bacteria es su gran capacidad de adaptarse a estrés ambiental, lo que dificulta su control en distintos alimentos listos para el consumo y a nivel industrial. En Ecuador, el impacto de la listeriosis es poco conocido, ya que no es una enfermedad de notificación obligatoria. En una investigación previa (Espinosa et al., 2021), se encontró el 14.23% de presencia de *L. monocytogenes* en quesos frescos, por lo que se decidió ampliar el análisis e incluir distintos alimentos listos para el consumo que se expenden en los mercados del DMQ. Se utilizó la técnica molecular de Reacción en cadena de la Polimerasa (PCR) para identificar el serogrupo de 56 aislados de *L. monocytogenes*. Se encontró que 40 cepas (71.42%) pertenecían al serogrupo IVb, 13 (23.21%) al IIb y 3 (5.35 %) al IIa.

Estos resultados demuestran que existe presencia de *Listeria monocytogenes* en alimentos listos para el consumo que se expenden en mercados del DMQ siendo el serogrupo IVb el más común. Anteriormente, ya se ha demostrado que este serogrupo es uno de los más patógenos y con mayor frecuencia en alimentos y en casos clínicos en el Ecuador y en otros países. Los resultados de esta investigación sugieren la notificación obligatoria de *L. monocytogenes* en el Ecuador y demuestran la importancia de implementar medidas para prevenir la listeriosis.

**Palabras clave:** ETAs, listeriosis, *Listeria monocytogenes*, PCR, serogrupo IVb, notificación obligatoria

## ABSTRACT

Foodborne diseases (FBDs) are a worldwide problem. A very important FBD due to its high mortality rate (20-30%) and its associated risk groups (neonates, elderly, immunocompromised persons, pregnant women) is listeriosis. *Listeria monocytogenes* is an intracellular pathogen causing this disease. The most important characteristic of this bacterium is its great capacity to adapt to environmental stress, which makes it difficult to control in different ready-to-eat foods and at the industrial level. In Ecuador, the impact of listeriosis is little known, since it is not a notifiable disease. In a previous investigation (Espinosa et al., 2021), 14,23% of *L. monocytogenes* were present in fresh cheeses, so it was decided to expand the analysis to include different ready-to-eat foods sold in the DMQ markets. The Polymerase Chain Reaction (PCR) molecular technique was used to identify the serogroup of 56 *L. monocytogenes* isolates. It was found that 40 strains (71.42%) belonged to serogroup IVb, 13 (23.21%) to IIb and 3 (5.35%) to IIa.

These results demonstrate the presence of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods sold in DMQ markets, with serogroup IVb being the most common. Previously, it has been shown that this serogroup is one of the most pathogenic and most frequent in food and in clinical cases in Ecuador and in other countries. The results of this research suggest mandatory reporting of *L. monocytogenes* in Ecuador and demonstrate the importance of implementing measures to prevent listeriosis.

**Key words:** ETAs, listeriosis, *Listeria monocytogenes*, PCR, serogroup IVb, mandatory.

**TABLA DE CONTENIDO**

Introducción.....	12
Metodología.....	16
Antecedente.....	16
Reactivación de cepas.....	17
Extracción de material genético por técnica de ebullición.....	17
Confirmación de <i>Listeria monocytogenes</i> por PCR .....	17
Identificación de Serogrupos por PCR multiplex.....	17
pH en alimentos positivos para <i>L. monocytogenes</i> .....	18
Resultados.....	19
Discusión.....	21
Conclusiones.....	26
Tablas.....	27
Figuras.....	28
Referencias.....	29

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Set de primers utilizados para identificación de serogrupos de <i>L. monocytogenes</i> .....	25
Tabla 2: Distribución de serogrupos de <i>Listeria monocytogenes</i> en alimentos que se expenden en el Distrito Metropolitano de Quito .....	25



## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Electroforesis en gel de agarosa de fragmentos de ADN generados por PCR multiplex con cepas aisladas de <i>L. monocytogenes</i> .....	26
--	----

## INTRODUCCIÓN

Las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETAs) constituyen un problema a nivel mundial. Se producen por la ingestión de alimentos o bebidas contaminados con microorganismos patógenos o sus toxinas que generan enfermedad en el consumidor (Fernández et al., 2021). Las principales causas de morbilidad y mortalidad asociadas a ETAs en países en desarrollo son las enfermedades gastrointestinales (Delgado et al., 2013). Por otro lado, en países desarrollados las ETAs disminuyen los niveles de productividad por gastos médicos y servicios de salud (FAO, 2022). Existen alrededor de 250 agentes causantes de ETAs entre los que se incluyen principalmente bacterias, además de virus, hongos, parásitos, priones, sustancias químicas y metales (Zuñiga et al., 2017).

El incremento de las ETAs recae sobre cambios en los hábitos alimentarios de la sociedad, entre estos, el consumo de alimentos envasados, comida preparada fuera del hogar y comida rápida (Fernandez et al., 2021). A pesar de los controles y medidas implementadas en la industria alimentaria, se estima que cada año aproximadamente 600 millones de personas enferman por ingerir alimentos contaminados, casi 1 de cada 10 habitantes (OMS, 2020). Los niños menores de 5 años representan un 40% de los casos de enfermedades de transmisión alimentaria y se registran 125 000 muertes al año en este grupo de edad (OMS, 2015).

Dentro de las causas bacterianas de las ETAs, *Listeria monocytogenes* se encuentra entre las relacionadas con mayor mortalidad (Goulet et al., 2012). Esta bacteria pertenece al género *Listeria*, donde se han reportado 20 especies y únicamente dos son patógenos de mamíferos (Nwaiwo et al., 2020). *L. ivanovii* se encuentra principalmente asociado con enfermedades en rumiantes y *L. monocytogenes* asociado con animales y humanos (Orsi et al., 2011) causante de la listeriosis. Aunque es poco frecuente, genera gran preocupación debido a su alta tasa de mortalidad de 20% al 30% (Choi et al., 2018). En la mayoría de los casos clínicos se presenta como bacteriemia, meningitis o meningoencefalitis. En infecciones asociadas al embarazo

puede resultar en aborto espontáneo o sepsis neonatal en el 60% de los casos (Merel et al., 2022) Según el Centro para el Control de Enfermedades, en Estados Unidos aproximadamente 1600 personas enferman de listeriosis cada año y 260 mueren a causa de la enfermedad. La listeriosis es más prevalente en grupos de riesgo que incluyen mujeres embarazadas, neonatos, personas inmunocomprometidas y personas de la tercera edad (Rogalla y Bomar, 2023). Su dosis infectiva mínima es <math><100\text{ UFC/g}</math> o mL de alimento (Mena, 2010).

*Listeria monocytogenes* es un patógeno intracelular, bacilo grampositivo corto, anaerobio facultativo, móvil y no formador de esporas (Murray et al, 2021). Es una bacteria ubicua en el medio ambiente y puede sobrevivir en el suelo, agua, superficies, heces y distintos alimentos (Rogalla y Bomar,2023). Es un microorganismo psicrótrofo que sobrevive al proceso de acidificación de las comidas y continúa su replicación lentamente a bajas temperaturas, pudiendo crecer incluso en alimentos adecuadamente refrigerados (Rodríguez et al., 2018) y sobrevive a la congelación (Elsayed et al., 2022). Puede generar biopelículas en alimentos y en superficies asociadas a plantas de producción de alimentos (Overney et a., 2017), y se ha visto que tiene la capacidad de desarrollar tolerancia a distintos desinfectantes en entornos industriales (Finn et al., 2023). Crece a distintas temperaturas entre  $-0.4^{\circ}\text{C}$  y  $45^{\circ}\text{C}$ , resiste condiciones con un amplio rango de pH entre 4.4 y 9.4 y altas concentraciones de sal de hasta el 20% (CDC,2022). Estas características permiten que sobreviva en entornos asociados a distintos alimentos listos para el consumo y dificulta su control a nivel industrial (Finn et al., 2023).

*L. monocytogenes* es genéticamente diversa, y comprende 4 serogrupos moleculares (IIa, IIb, IIc y IVb) que incluyen 14 serotipos dentro de cuatro linajes genéticos evolutivos I,II,III y IV (Ulloa et al., 2019). Para cada serogrupo se incluye: IIa (1/2a-3a), IIc (1/2c-3c), IIb (1/2b – 3b y 7) y IVb (4b, 4d y 4e) (Figuroa et al., 2023). Los serogrupos muestran una distribución variable en relación con los alimentos y entornos de procesamiento, así como en casos de

listeriosis clínica humana y animal (Doumith et al, 20004). Unicamente 1/2a, 1/2b, 1/2c y 4b se encuentran con mayor frecuencia en alimentos y aislados clínicos (Muchaamba et al., 2022). El serotipo 4b se asocia con la mayor cantidad de casos de listeriosis humana (Finn et al., 2023). En Ecuador, el impacto de la listeriosis es poco conocido. A pesar de la gravedad de los síntomas no es una enfermedad de notificación obligatoria. Entre algunas de las investigaciones previas realizadas en el Ecuador se encontró que Mena evaluó la presencia de *L. monocytogenes* a nivel de tres mercados de Quito tomando en cuenta muestras de yogures y salchichas en el que se encontró una contaminación del 4% y 9%, respectivamente (Mena, 2010). Después, se demostró el 35.6% de prevalencia de *L. monocytogenes* en quesos artesanales provenientes de tres haciendas de la provincia de Pichincha (Chiluisa y Valladares, 2017). Durante la evaluación de muestras de quesos frescos artesanales en la ciudad de Riobamba, se detectó la presencia de *L. monocytogenes* en el 100% de las muestras analizadas. (Lopez et al., 2022). Se confirmó además, la presencia de *L. monocytogenes* en superficies inertes en contacto con quesos frescos en Quito (Diaz, 2022) y una presencia del 16.3% para productos cárnicos analizados en la ciudad de Quevedo (Meza-Bone et al., 2023). Finalmente, se encontró, en una de las investigaciones que incluye mayor territorio del Ecuador 18/24 provincias la presencia del 14.23% para *L. monocytogenes* en quesos frescos sin tratamiento térmico (Espinosa et al., 2022). En dicha investigación se identificó por primera vez los serogrupos asociados en los que el serogrupo IVb, que incluye el serotipo 4b se encontró en el 83.78% de aislados de muestras provenientes de quesos. Las investigaciones previas demuestran la presencia de *Listeria monocytogenes* en alimentos que se distribuyen en el Ecuador y de acuerdo con la literatura, se confirma que el serogrupo IVb es el más frecuente. Los vehículos de *Listeria* son alimentos listos para el consumo, los cuales incluyen principalmente, cárnicos, verduras y productos lácteos (Espinosa et al., 2022). En una entrevista realizada a distintos grupos de personas de Quito se menciona que “los mercados

son los principales lugares de consumo alimenticio típico” (Sigrist et al., 2022). Por esa razón, los mercados nos permiten establecer una línea base sobre la dispersión de patógenos alimentarios hacia los consumidores. Dentro del Distrito Metropolitano de Quito existen aproximadamente 54 mercados y ferias municipales. Estos mercados cuentan con un sistema de comercialización caracterizado principalmente por el comercio minorista y la venta de comida fresca (Chejín et al., 2021). Los mercados de Quito son un principal punto para comprender el dinamismo social y los hábitos alimentarios de la cultura ecuatoriana (Chavarrea et al., 2019).

Debido a las características ambientales de este microorganismo y a la importancia de esta enfermedad, especialmente para los grupos de riesgo. En este estudio se buscó determinar, mediante la técnica molecular de Reacción en Cadena de la Polimerasa múltiple, la distribución de serogrupos de *L. monocytogenes* en 56 aislados de alimentos listos para el consumo tomadas previamente en mercados del Distrito Metropolitano de Quito.

## METODOLOGÍA

### 2.1 Antecedentes

Como parte del proyecto de vinculación con la sociedad “Identificación de *Salmonella* y *Listeria monocytogenes* aisladas en alimentos de ventas autónomas y mercados municipales en el Distrito Metropolitano de Quito”, llevado a cabo por el Laboratorio de Microbiología de Alimentos del Instituto de Microbiología de la Universidad San Francisco de Quito se obtuvieron 145 muestras de alimentos positivas para *Listeria monocytogenes*. Se analizó 871 muestras de distintos alimentos: aguas, ajíes, cárnicos, comida preparada, embutidos, ensaladas, fruta, jugo, lácteos, salsas y vegetales de 20 mercados del Distrito Metropolitano de Quito tomadas entre diciembre 2021 y abril 2023. Las 145 cepas fueron procesadas y reportadas como positivas a partir de su análisis mediante el Sistema de Detección Molecular (MDS) de la marca 3M. Las muestras positivas fueron inoculadas en medio selectivo Palcam Listeria (BD™) a 37°C por 24 horas y se logró el aislamiento de una o varias morfologías sugerentes de *Listeria*. Los aislados fueron almacenados a -80 °C en leche desnatada con 10% de glicerol para su posterior análisis. A partir de ese estudio, esta investigación se centra en el análisis de 56 cepas de *L. monocytogenes*.

### 2.2 Reactivación de cepas

Las 56 cepas aisladas y congeladas fueron reactivadas en agar nutritivo durante 24 horas a 37°C, seguido de un cultivo en agar selectivo Palcam Listeria (BD™) bajo las mismas condiciones. Las colonias seleccionadas como sugerentes del género *Listeria* presentaban un color gris/verde con un halo marrón oscuro a negro (Benetti et al., 2012). Se realizó un subcultivo en agar nutritivo para proceder con la extracción del material genético.

### 2.3 Extracción de material genético por técnica de ebullición

A partir de cultivos axénicos en agar nutritivo se tomó entre 7 y 9 colonias aisladas y se homogeneizó en 300 µl de agua destilada estéril en tubos de 1.5 ml. Las soluciones bacterianas

fueron sometidas a ebullición durante 20 minutos para lograr lisis celular y la obtención del material genético (Hassan et al., 2020 y Dashti et al., 2009). Los tubos fueron almacenados a -20°C para su posterior análisis.

#### **2.4 Confirmación de *Listeria monocytogenes* por PCR en punto final**

Para confirmar la especie *L. monocytogenes* se llevó a cabo una reacción de amplificación por PCR en base al protocolo estandarizado por Tao et al., 2016. Se realizaron las siguientes modificaciones para cada reacción: 1x PCR buffer, 2.0 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.2 mM dNTPs, 0.5 U Taq polimerasa, 0.3 mM Lm13 , 1 µl de ADN y agua libre de nucleasas estéril para PCR con un volumen final de 10 µl por reacción. El producto de amplificación (583 pb) fue separado en un gel de electroforesis de agarosa al 2% en un tampón de TBE 1X y visualizado mediante un fotodocumentador. Se utilizó ADN de la cepa de *L. monocytogenes* 4b ATCC 13932 como control positivo y agua de PCR como control negativo. Los cebadores utilizados fueron: F (5'GTTCGTCGGTCCGTGGTA3') y R (5'TTGGCAAGCAAGCAGTTCA3'). El material genético de las cepas confirmadas para *L. monocytogenes* fue almacenado a -20°C para su posterior análisis molecular.

#### **2.5 Identificación de Serogrupos por PCR multiplex**

Para determinar serogrupos de *Listeria monocytogenes* se llevó a cabo una reacción de amplificación por PCR múltiple en base al protocolo estandarizado por Doumith et al., 2004 y Espinosa et al., 2022, donde se toman en cuenta los siguientes genes para la detección de cada serogrupo *lmo0737*, *lmo1118*, *ORF2819*, *ORF2110* y *PRS* con sus respectivos cebadores. En base al contenido variable de genes se divide en los tres linajes principales I, II y III de *L. monocytogenes* que se clasifican en cinco grupos filogenéticos cada uno correlacionado con ciertos serotipos: I.1 (1/2a-3a), I.2 (1/2c-3c), II.1 (4b-4d-4e), II.2 (1/2b-3b-7) y III (4a-4c). Para la reacción de amplificación se realizó un cambio en la concentración final (0.3 mM) de los cinco conjuntos de cebadores manteniendo los demás reactivos de acuerdo con el protocolo

original. La amplificación por PCR se llevó a cabo siguiendo el programa de Doumith et al., 2004 en un Termociclador Biorad Biosystems. El producto de amplificación (10 µl de reacción) fue separado en un gel de electroforesis de agarosa al 2% en un tampón de TBE 1X y visualizado mediante un fotodocumentador. Se utilizó la cepa de *L. monocytogenes* 4b ATCC 13932 como control positivo y agua de PCR como control negativo. En la tabla 1 (Doumith et al., 2004) se puede observar los pares de primers que permitieron identificar los serogrupos y los serotipos correspondientes a las cepas aisladas de *L. monocytogenes*. Además, se utilizó un primer de control interno de amplificación (prs) específico del género *Listeria*. La identificación de los serogrupos es posible al diferenciar los tamaños de los productos amplificados (471 pb y 597 pb para el serotipo 4b, 691 pb para el serotipo 1/2 a, 471 pb para el serotipo 1/2 b, 691 pb y 906 pb para el serotipo 1/2c) (Doumith et al., 2004).

## **2.6 Medición de pH en alimentos positivos para *L. monocytogenes***

Se realizó la medición de la acidez o basicidad para los alimentos positivos para *L. monocytogenes*. Se seleccionó un alimento por cada clasificación que anteriormente salió positivo. Se utilizó tiras tornasol – Fix 2.0-9.0 de la marca Mancherey-Nagel. Cada tira fue insertada dentro de la muestra acuosa durante 3 segundos. Se comparó el resultado de la tira tornasol con el diagrama de color que se encuentra en la cubierta para obtener el valor aproximado de pH.



## RESULTADOS

De las 149 muestras positivas para *Listeria monocytogenes* por análisis de MDS llevado a cabo por el personal del Laboratorio de Microbiología de alimentos de la Universidad San Francisco de Quito, se pudo reactivar y aislar 86 cepas sugerentes del género *Listeria*. Mediante análisis bacteriológicos y moleculares se confirmaron 56 aislados de *Listeria monocytogenes*. Las 149 muestras positivas para *L. monocytogenes* representaron el 16.81% de presencia de esta bacteria en alimentos que se expendían en el DMQ. Los tipos de alimentos que incluyen a los 149 positivos de *L. monocytogenes* son: aguas, ajíes, cárnicos, comida preparada, embutidos, ensaladas, frutas, jugos, lácteos, salsas y vegetales.

En el presente estudio se identificaron 40 cepas (71.42%) que pertenecían al serogrupo IVb (serotipos 4b, 4d, 4e), 13 cepas (23.21%) al serogrupo IIb (1/2b, 3b, 7) y 3 cepas (5.35 %) al serogrupo IIa (1/2a, 3a). La tabla 2 muestra la distribución de serogrupos para los 56 aislados. Se excluyeron las categorías de comida preparada y lácteos que fueron alimentos en los que no se pudo aislar o reactivar a *L. monocytogenes*. Entre los alimentos con mayor relevancia se encuentran las ensaladas en la que la presencia del serogrupo IVb (4b-4d-4e) estuvo presente en un 76.19%. Para el ají se obtuvo una mayor variabilidad de los serogrupos presentes. Se observó que el 55.55% correspondía al serogrupo IVb, el 27.77% al serogrupo IIb y 16.66% al serogrupo IIa. Nuevamente, el serogrupo IVb que incluye el serotipo 4b es el más frecuente. La figura 1 muestra un ejemplo del resultado de las amplificaciones de la PCR múltiple obtenidas en condiciones previamente mencionadas. Todos los aislados amplificaron el gen *prs* (370 pb) del control interno. Los resultados resumidos se encuentran en la Tabla 2 que muestran que los 56 aislados presentaron serogrupos 1/2a, 1/2b, 3a, 3b, 4d, 4b, 4e y 7. Para la cantidad total de alimentos aislados se observó de igual manera, que el serogrupo que incluye el serotipo 4b se encuentra en mayor cantidad con un 74,51% en muestras de alimentos que se expendían en el DMQ.

En cuanto al análisis de acidez y basicidad de las distintas categorías de los alimentos, se obtuvo que para los ajíes el pH puede variar entre 3.0 y 4.5 dependiendo de sus ingredientes. Por otro lado, para la categoría de ensalada se tomó en cuenta la ensalada de col que incluye pimiento, cebolla y zanahoria con un pH de 3.5. En general, las muestras positivas presentaron un pH entre 3.5 y 7: en embutidos (chorizo) 5.0, cárnicos (librillo) 5.0, fruta (mango picado con limón) 3.5, jugos (mora y alfalfa) 4.5, vegetales (lechuga picada) 5.5, salsa (mayonesa) 3.5, aguas (hielo) 7.0.

## DISCUSIÓN

A partir de los aislados de *L. monocytogenes* de origen alimentario que se analizaron en este estudio, se logró identificar 3 serogrupos. Los serogrupos IVb (71.42%) y IIb (23.21%) fueron los serogrupos más frecuentemente encontrados, seguidos de IIa (5.53%). Los perfiles de la PCR múltiple utilizada para este estudio no distinguen dentro de la especie *L. monocytogenes* los 14 serotipos específicos (Doumith,2004 y Ying,2023). Debido a la frecuencia en que los serotipos 3a, 3b, 3c, 4a, 4c, 4e, 4d, y 7 se han aislado a partir de alimentos se presume que los serotipos asociados a los serogrupos identificados en estos productos corresponden a 1/2<sup>a</sup>, 1/2b y 4b. Varias publicaciones han demostrado que estos serotipos están asociados con el 95% de casos clínicos y productos alimentarios (Hajilouka et al, 2014 y Pontello et al., 2012).

En un estudio previo sobre serogrupos realizado en el Ecuador se obtuvo la presencia del 83,78% para el serogrupo IVb y 8,11% para IIa y IIb en distintas muestras de quesos artesanales (Espinoza et al., 2022). En Chile, encontraron una distribución similar siendo el serotipo 4b (46%) el más prevalente en hortalizas, longanizas y leche cruda (Montero et al., 2013). En Colombia, se encontró que los serotipos más prevalentes fueron de igual manera 4b (57,6%), 1/2b (10,8%) y 1/2a (9,5%) con un predominio de cepas pertenecientes a 4b con una relación de 5 a 1 respecto a los demás aislados (Muñoz et al., 2012). Según distintos estudios epidemiológicos realizados en varios países de Latinoamérica, se ha observado que los serotipos 4b y 1/2b de *L. monocytogenes* son consistentemente los más prevalentes (Rodríguez,2018). Estos hallazgos indican que, existe una mayor incidencia de cepas asociadas con estos serotipos y el presente estudio concuerda con dichos datos preliminares.

Si tomamos en cuenta países de Europa y Asia la presencia de *L. monocytogenes* es diferente. En Japón los serotipos más comunes aislados de alimentos listos para el consumo fueron 1/2a (47,6%), 1/2b (20,6%) y 4b (14,3%) (Shimajima et al., 2016). En Polonia, 1/2a (54,5%), 1/2c (25,5%)1/2b (12,5%) y 4b (7,6%) (Korsak et al., 2012). En Irlanda, descubrieron que el

serotipo más común en diferentes alimentos era 1/2a (57,4%), seguido del 4b (14,1%). (O'Connor et al., 2010) y existen países en los que actualmente la listeriosis genera un gran problema de salud como España en el que durante los años 2019 y 2020 se han reportado más de 800 casos de listeriosis que siguen en aumento (RNVE, 2023). En todos los estudios mencionados, se aisló *L. monocytogenes* a partir de muestras similares que incluyen principalmente alimentos listos para el consumo. La variación en la prevalencia de serotipos de *Listeria monocytogenes* entre Latinoamérica y países de Europa y Asia mencionados, puede atribuirse a múltiples factores, incluyendo diferencias en las prácticas agrícolas, hábitos alimentarios y condiciones ambientales así como también adaptabilidad bacteriana a las diferentes condiciones de estos países (Desai et al., 2019).

Se encontró una alta presencia de *Listeria monocytogenes* serogrupo IVb presente en distintos alimentos, entre los que se destacan las ensaladas de vegetales con un total de 21 aislados. Este alimento presentó una presencia del 76,42% para dicho serogrupo. Entre las razones más importantes se define que *L. monocytogenes* es una bacteria ambiental que se encuentra muy difundida en la tierra (Chowdhury y Anand, 2023). Tiene una gran capacidad de adherencia y persistencia en distintas superficies durante meses o incluso años (Overney et al., 2017). Por lo que, los vegetales crudos son vehículos potenciales de listeriosis humana (Betancourt et al., 2010). Entre las fuentes de contaminación asociadas a las ensaladas se encuentran: aguas residuales, abono con heces de humanos o animales, lavado postcosecha con agua contaminada, deficiente protección durante el transporte e inadecuada preparación (Soberon et al., 2017). Este tipo de alimento preparado es consumido a diario por el 95% de familias ecuatorianas (Nirse, 2021).

Por otro lado, las salsas de ají con 18 aislados son parte de los alimentos con mayor variabilidad de serogrupos de *L. monocytogenes* entre los que se destaca de igual forma IVb (55,55%) seguido de IIb (27,77%) y IIa (16,66). La variabilidad de serogrupos encontrados se atribuye a

diversos factores que contribuyen a la complejidad de la contaminación y la ecología de la bacteria (Gonzalez et al., 2018). Las salsas de ají activan sentidos, potencian sabores y se combinan con productos nativos como chochos, el tomate de árbol, pepa de zambo y maní principalmente (Gonzalez et al., 2018).

El resto de los aislados (17) corresponden a distintos alimentos que incluyen: aguas, cárnicos, embutidos, frutas, jugos, salsas y vegetales. En particular, la distribución en estos alimentos revela una predominancia del serogrupo IVb con un 82,36% seguido por el serogrupo IIb con un 17,64%. En estos alimentos se encuentran los cárnicos, lácteos y vegetales asociados a un alto riesgo por estar asociados a brotes de listeriosis (Bover et al., 2014)

Aunque la temperatura se considera comúnmente como un factor eficaz para la eliminación y control de diversos patógenos alimentarios, *L. monocytogenes* desafía este mecanismo gracias a la regulación de la movilidad en condiciones térmicas variables (Overney et al., 2017) Este fenómeno está vinculado a la regulación de la síntesis del flagelo mediante tres genes clave: *MogR*, *DegU* y *GmaR* (Vera et al., 2013). A temperatura fisiológica (37 °C), la transcripción de genes relacionados con la movilidad, como *MogR*, experimenta represión. Sin embargo, a  $\leq 30^{\circ}\text{C}$  *DegU* activa la expresión de *GmaR*, contrarrestando la represión de *MogR*. Este intrincado sistema de regulación permite que *L. monocytogenes* ajuste su movilidad según las condiciones térmicas (Grundling et al., 2004 y Vera et al., 2013). Cabe destacar que la mayoría de los alimentos listos para el consumo normalmente no son sometidos nuevamente a un tratamiento térmico, se mantienen en temperatura ambiente o bajo refrigeración. Estas condiciones generan un entorno propicio para la proliferación de *L. monocytogenes*, resaltando la importancia de los factores de virulencia en su replicación.

El pH de los alimentos juega un papel crucial en la presencia y propagación de *L. monocytogenes*, destacándose como uno de los microorganismos con mayor presencia en alimentos con pH bajo (Espinoza et al., 2022). El rango de pH aproximado de los alimentos en

este estudio varía entre 3.0 a 7.0, siendo los ajíes los más ácidos y las aguas los más alcalinos. Un factor de virulencia importante en estas condiciones es la listeriolisina O (Coelho et al., 2019). La listeriolisina O es una toxina citolítica y hemolítica, reconocida como un factor de virulencia esencial para la replicación de *L. monocytogenes* en ambientes ácidos (Bover et al., 2014 y Oteo et al., 2019). Se conoce que esta toxina está presente en todos los serogrupos de *Listeria monocytogenes*, sin embargo, existen serogrupos como el IIc que una vez que el ambiente presenta condiciones extremas de salinidad o acidez disminuye la producción de esta toxina lo que impide su replicación (Muchaamba et al., 2022). Para serogrupos como el IVb, principal causante de casos de listeriosis este factor de virulencia es de gran importancia debido a que la producción de la toxina forma poros esenciales para el escape de *L. monocytogenes* de la vacuola tras el proceso de internalización (Gedde et al., 2000). El serogrupo IVb está asociado a una mejor invasión y crecimiento intracelular en los macrófagos y células epiteliales lo que contribuye a su replicación e infección en las células (Bernal et al., 2014). Estos factores asociados al serogrupo IVb explican que es un serogrupo potencialmente patógeno y está implicado en más del 95% de casos de listeriosis (Nguyen et al., 2019)

En relación con la distribución epidemiológica y la estructura genética de las especies de *L. monocytogenes*, se sugiere que los serogrupos IIa y IIc exhiben una mayor heterogeneidad genética y diferentes niveles de patogenicidad, mostrándose menos virulentos para los humanos (Muchaamba et al., 2022). Los resultados de este estudio coinciden con la literatura existente, indicando que la presencia de distintos serogrupos puede estar vinculada a la persistencia de cada cepa y a su capacidad para formar biopelículas, así como a su resistencia a diversas condiciones ecológicas en los alimentos (Szymczak et al., 2020).

La escasa investigación sobre la incidencia de *L. monocytogenes*, resalta la necesidad de estudiar a fondo los serogrupos y sus factores de virulencia en los alimentos de Quito.

## CONCLUSIONES

Estos resultados demuestran que existe presencia de *Listeria monocytogenes* en mercados del DMQ siendo el serogrupo IVb el más prevalente hasta el momento. Anteriormente, ya se ha demostrado que este serogrupo es el más frecuente en muestras de queso y en casos clínicos en Ecuador (Mata, et al. 2021) y en otros países (Muchaamba, et al. 2021). Los resultados de esta investigación muestran la importancia de hacer seguimiento de este patógeno en nuestro país. Se recomienda que la listeriosis debe ser una enfermedad de notificación obligatoria ya que, al no serlo, genera estos vacíos y dificulta su comprensión.

Es importante mantener un control constante de *L. monocytogenes* en los alimentos listos para el consumo disponibles en Quito, abarcando productos como aguas, ajíes, cárnicos, comidas preparadas, embutidos, ensaladas, frutas, jugos, lácteos, salsas y vegetales. No obstante, es esencial destacar la importancia de enfocarse especialmente en alimentos emblemáticos de la gastronomía ecuatoriana, como el ají y las ensaladas. Estos no solo son elementos arraigados en la cultura culinaria, sino que también han sido identificados con una mayor presencia de *L. monocytogenes* y una mayor variabilidad en sus serogrupos.

La identificación temprana de la fuente de contaminación es fundamental para rastrear el origen y reducir la exposición. Al hacer hincapié en alimentos específicos como el ají y las ensaladas, se puede implementar una vigilancia más focalizada y aplicar estrategias de control más efectivas para prevenir la listeriosis.

## TABLAS

Tabla 1

Set de primers utilizados para identificación de serogrupos de *L. monocytogenes*.

Gen target	Secuencia del primer (5' - 3')	Tamaño (pb)	Serotipos específicos
<i>lmo0737</i>	F: AGGGCTTCAAGGACTTACCC R: ACGATTTCTGCTTGCCATTC	691	<i>L. monocytogenes</i> serotipos 1/2a, 1/2c, 3a y 3c
<i>lmo1118</i>	F: AGGGGTCTTAAATCCTGGAA R: CGGCTTGTTCCGGCATACTTA	906	<i>L. monocytogenes</i> serotipos 1/2c y 3c
<i>ORF2819</i>	F: AGCAAAATGCCAAAACCTCGT R: CATCACTAAAGCCTCCCATTTG	471	<i>L. monocytogenes</i> serotipos 1/2b, 3b, 4b, 4d y 4e
<i>ORF2110</i>	F: AGTGGACAATTGATTGGTGAA R: CATCCATCCCTTACTTTGGAC	597	<i>L. monocytogenes</i> serotipos 4b, 4d y 4e
<i>prs</i>	F: GCTGAAGAGATTGCGAAAGAAG R: CAAAGAAACCTTGGATTTGCGG	370	<i>Listeria spp.</i>

Nota: La tabla muestra el set de primers con tamaño de secuencia correspondiente asociada al serogrupo que permite identificar (Doumith et al., 2004)

Tabla 2

Distribución de serogrupos de *Listeria monocytogenes* en alimentos que se expenden en el Distrito Metropolitano de Quito.

Serogrupo	Categoría del alimento (aislados)								
	Aguas (2)	Ajés (18)	Cárnicos (1)	Embutidos (2)	Ensalada (21)	Fruta (1)	Jugos (1)	Salsa (4)	Vegetales (6)
<i>Ila</i> (1/2 a-3a)	0	3	0	0	0	0	0	0	0
<i>Ilb</i> (1/2 b-3b)	0	5	1	0	5	0	0	0	2
<i>IVb</i> (4b -4d-4e)	2	10	0	2	16	1	1	4	4

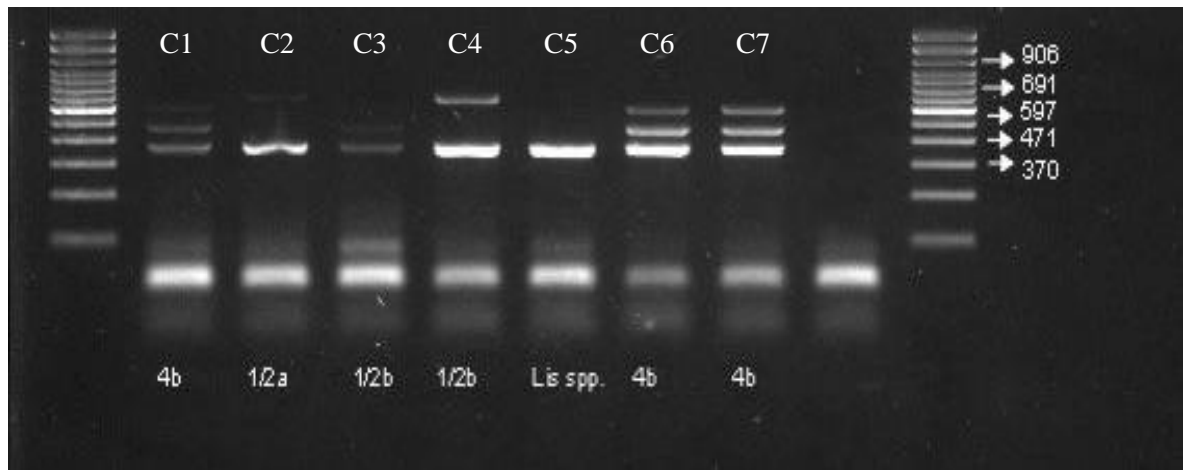
Nota: La tabla muestra las categorías de alimentos que fueron analizados en paréntesis se observan la cantidad de aislados por tipo de alimentos y además, los serogrupos correspondientes a cada aislado. Junto al serogrupo se observan los serotipos correspondientes.



## FIGURAS

Figura 1

Electroforesis en gel de agarosa de fragmentos de ADN generados por PCR multiplex con cepas aisladas de *L. monocytogenes*.



*Nota:* Se observa un gel de agarosa con distintos patrones que corresponden a los serogrupos obtenidos. El carril 1 a 6 que se lee de izquierda a derecha presenta lo siguiente: carril 1: (4b), carril 2:(1/2a), carril 3: (1/2b), carril 4: (1/2a), carril 5: (*Listeria spp*) y una cepa de referencia de *L. monocytogenes* serogrupo IVb utilizadas en el estudio Carril 6 y 7 como control positivo.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Betancourt, O., Villagrán, K., Muñoz, F., Gutiérrez, E., Mayorga, M., & Melgarejo, P. (2010). Serotipos de *Listeria monocytogenes* aislados de alimentos producidos en la provincia de Cautín, Chile. *Revista Científica*, 20(5), 529-536.
- Bover, A., 2014 i Cid, S. B. Condiciones que determinan el crecimiento y la supervivencia de *Listeria monocytogenes* en alimentos listos para el consumo.
- Chowdhury, B., & Anand, S. (2023). Environmental persistence of *Listeria monocytogenes* and its implications in dairy processing plants. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 22(6), 4573–4599. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.13234>
- Coelho, C., Brown, L., Maryam, M., Vij, R., Smith, D. F., Burnet, M. C., ... & Casadevall, A. (2019). *Listeria monocytogenes* virulence factors, including listeriolysin O, are secreted in biologically active extracellular vesicles. *Journal of Biological Chemistry*, 294(4), 1202-1217.
- Desai, A. N., Anyoha, A., Madoff, L. C., & Lassmann, B. (2019). Changing epidemiology of *Listeria monocytogenes* outbreaks, sporadic cases, and recalls globally: A review of ProMED reports from 1996 to 2018. *International Journal of Infectious Diseases*, 84, 48-53.
- Díaz Legña, E. J. (2022). *Detección de Listeria monocytogenes en superficies inertes en contacto con quesos frescos comercializados en mercados municipales del DMQ* (Bachelor's thesis, Quito: UCE).
- Disson, O., Moura, A., & Lecuit, M. (2021). Making sense of the biodiversity and virulence of *Listeria monocytogenes*. *Trends in Microbiology*, 29(9), 811-822.
- Doumith, M., Buchrieser, C., Glaser, P., Jacquet, C., & Martin, P. (2004). Differentiation of the major *Listeria monocytogenes* serovars by multiplex PCR. *Journal of clinical microbiology*, 42(8), 3819–3822. <https://doi.org/10.1128/JCM.42.8.3819-3822.2004>
- Doumith, M., Buchrieser, C., Glaser, P., Jacquet, C., & Martin, P. (2004). Differentiation of the major *Listeria monocytogenes* serovars by multiplex PCR. *Journal of clinical microbiology*, 42(8), 3819-3822.
- Espinoza Mata, A., Sánchez Velázquez, F. J., González, N., & Delgado Garduño, J. A. (2019). Reducción 5-log De *Listeria monocytogenes* en alimentos ácidos. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 4, 194-199.
- Fernández, S., Marcía, J., Bu, J., Baca, Y., Chavez, V., Montoya, H., ... & Ore, F. (2021). Enfermedades transmitidas por Alimentos (Etas); Una Alerta para el consumidor. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 5(2), 2284-2298.
- Finn, L., Onyeaka, H., & O'Neill, S. (2023). *Listeria monocytogenes* Biofilms in Food-Associated Environments: A Persistent Enigma. *Foods*, 12(18), 3339.
- Goulet, V., Hebert, M., Hedberg, C., Laurent, E., Vaillant, V., De Valk, H., & Desenclos, J. C. (2012). Incidence of listeriosis and related mortality among groups at risk of

- acquiring listeriosis. *Clinical infectious diseases*, 54(5), 652-660.
- Hadjilouka, A., Andritsos, N. D., Paramithiotis, S., Mataragas, M., & Drosinos, E. H. (2014). *Listeria monocytogenes* serotype prevalence and biodiversity in diverse food products. *Journal of Food Protection*, 77(12), 2115-2120.
- Hadjilouka, A., Andritsos, N. D., Paramithiotis, S., Mataragas, M., & Drosinos, E. H. (2014). *Listeria monocytogenes* serotype prevalence and biodiversity in diverse food products. *Journal of Food Protection*, 77(12), 2115-2120.
- Koopmans, M. M., Brouwer, M. C., Vázquez-Boland, J. A., & van de Beek, D. (2023). Human listeriosis. *Clinical Microbiology Reviews*, 36(1), e00060-19.
- Korsak, D., Borek, A., Daniluk, S., Grabowska, A., & Pappelbaum, K. (2012). Antimicrobial susceptibilities of *Listeria monocytogenes* strains isolated from food and food processing environment in Poland. *International Journal of Food Microbiology*, 158(3), 203-208.
- Lema Salazar, N. S. (2018). *El ají, variedades, técnicas y usos aplicados a la cocina moderna ecuatoriana* (Bachelor's thesis, Quito: Universidad de las Américas, 2018).
- López-Salazar, J. R., Rodríguez-Haro, C. E., López-Ullauri, V. G., & Díaz-Monroy, B. L. (2022). Prevalencia de *Listeria monocytogenes* en quesos frescos artesanales expendidos en mercados públicos de la ciudad de Riobamba, Ecuador. *Polo del Conocimiento*, 7(2), 1476-1487.
- Mata, E. E., Mejía, L., Villacís, J. E., Alban, V., & Zapata, S. (2022). Detection and genotyping of *Listeria monocytogenes* in artisanal soft cheeses from Ecuador. *Revista argentina de microbiología*, 54(1), 101-110.
- Mena Palacios, M. C. (2010). *Evaluación de la prevalencia de Listeria monocytogenes en productos lácteos y embutidos en tres mercados de la ciudad de Quito mediante la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real* (Bachelor's thesis, QUITO/PUCE/2010).
- Meza-Bone, G. A., Meza Bone, J. S., Cedeño, Á., Martín, I., Martín, A., Maddela, N. R., & Córdoba, J. J. (2023). Prevalence of *Listeria monocytogenes* in RTE Meat Products of Quevedo (Ecuador). *Foods*, 12(15), 2956.
- Ministerio de Salud Pública, M. (2019). Subsistema de vigilancia sive-alerta enfermedades transmitidas por agua y alimentos Ecuador.
- Muñoz, A. I. (2012). Distribución de serotipos de *Listeria monocytogenes* aislados de alimentos, Colombia, 2000-2009. *Biomédica*, 32(3), 408-417.
- Muñoz, A. I., Vargas, M., Otero, L., Díaz, G., & Guzmán, V. (2011). Presencia de *Listeria monocytogenes* en alimentos listos para el consumo, procedentes de plazas de mercado y delicatessen de supermercados de cadena, Bogotá, DC, 2002-2008. *Biomédica*, 31(3), 428-439.
- O'Connor, L., O'leary, M., Leonard, N., Godinho, M., O'Reilly, C., Egan, J., & O'Mahony, R. (2010). The characterization of *Listeria* spp. isolated from food products and the

food-processing environment. *Letters in applied microbiology*, 51(5), 490-498.

Organización Mundial de la Salud (2022) Guía para el día Mundial de la Inocuidad de los alimentos de 2022. chrome-extension://efaidnbnmnnibpcajpcglcfeindmkaj/https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/352329/WHO-HEP-NFS-AFS-2022.1-spa.pdf?sequence=1

Orsi, R. H., den Bakker, H. C., & Wiedmann, M. (2011). *Listeria monocytogenes* lineages: Genomics, evolution, ecology, and phenotypic characteristics. *International Journal of Medical Microbiology*, 301(2), 79-96.

Oteo, J., & Alós, J. I. (2009). *Listeria y listeriosis. Servicio de Microbiología. Hospital de Móstoles. Móstoles. Madrid, 1.*

Overney, A., Jacques-André-Coquin, J., Ng, P., Carpentier, B., Guillier, L., & Firmesse, O. (2017). Impact of environmental factors on the culturability and viability of *Listeria monocytogenes* under conditions encountered in food processing plants. *International journal of food microbiology*, 244, 74–81. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.12.012>

Pontello, M., Guaita, A., Sala, G., Cipolla, M., Gattuso, A., Sonnessa, M., & Gianfranceschi, M. V. (2012). *Listeria monocytogenes* serotypes in human infections (Italy, 2000-2010). *Annali dell'Istituto superiore di sanità*, 48, 146-150.

Pontello, M., Guaita, A., Sala, G., Cipolla, M., Gattuso, A., Sonnessa, M., & Gianfranceschi, M. V. (2012). *Listeria monocytogenes* serotypes in human infections (Italy, 2000-2010). *Annali dell'Istituto superiore di sanità*, 48, 146-150.

Puentes Pérez, C. J. (2014). Determinación de *Listeria Monocytogenes* en ensaladas listas para el consumo en los restaurantes satélites y aledaños de la Universidad del Tolima.

Puentes Pérez, C. J. (2014). Determinación de *Listeria Monocytogenes* en ensaladas listas para el consumo en los restaurantes satélites y aledaños de la Universidad del Tolima.

Ramírez Bernal, G., Lara Sagahón, A. V., García Tovar, C. G., Díaz Aparicio, E., & Tenorio Gutiérrez, V. R. (2014). Virulencia de cepas de *Listeria monocytogenes* procedentes de cabras y sus derivados. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 5(3), 341-355.

Ramírez Bernal, G., Lara Sagahón, A. V., García Tovar, C. G., Díaz Aparicio, E., & Tenorio Gutiérrez, V. R. (2014). Virulencia de cepas de *Listeria monocytogenes* procedentes de cabras y sus derivados. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 5(3), 341-355.

Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica (2023) Informe eidemiológico sobre la situación de la listeriosis en España. Obtenido de: [https://www.isciii.es/QueHacemos/Servicios/VigilanciaSaludPublicaRENAVE/EnfermedadesTransmisibles/Documents/archivos%20A-Z/Listeriosis/Informe\\_Listeria\\_2019\\_2020\\_final.pdf](https://www.isciii.es/QueHacemos/Servicios/VigilanciaSaludPublicaRENAVE/EnfermedadesTransmisibles/Documents/archivos%20A-Z/Listeriosis/Informe_Listeria_2019_2020_final.pdf)

Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica (2023) Informe eidemiológico sobre la situación de la listeriosis en España. Obtenido de: [https://www.isciii.es/QueHacemos/Servicios/VigilanciaSaludPublicaRENAVE/EnfermedadesTransmisibles/Documents/archivos%20A-](https://www.isciii.es/QueHacemos/Servicios/VigilanciaSaludPublicaRENAVE/EnfermedadesTransmisibles/Documents/archivos%20A-Z/Listeriosis/Informe_Listeria_2019_2020_final.pdf)

Z/Listeriosis/Informe\_Listeria\_2019\_2020\_final.pdf

- Rodríguez-Auad, J. P. (2018). Panorama de la infección por *Listeria monocytogenes*. *Revista chilena de infectología*, 35(6), 649-657.
- Rodríguez-Auad, J. P. (2018). Panorama de la infección por *Listeria monocytogenes*. *Revista chilena de infectología*, 35(6), 649-657.
- Rodríguez-Auad, J. P. (2018). Panorama de la infección por *Listeria monocytogenes*. *Revista chilena de infectología*, 35(6), 649-657.
- Shimojima, Y., Ida, M., Nakama, A., Nishino, Y., Fukui, R., Kuroda, S., ... & Sadamasu, K. (2016). Prevalence and contamination levels of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods in Tokyo, Japan. *Journal of Veterinary Medical Science*, 78(7), 1183-1187.
- Soberon Amado, J. G. (2017). Calidad microbiana y *Listeria monocytogenes* en ensaladas expendidas en pollerías del distrito de los Olivos–Lima, Perú.
- Szymczak, B., Szymczak, M., & Trafiałek, J. (2020). Prevalence of *Listeria* species and *L. monocytogenes* in ready-to-eat foods in the West Pomeranian region of Poland: Correlations between the contamination level, serogroups, ingredients, and producers. *Food microbiology*, 91, 103532.
- Tao, T., Chen, Q., Bie, X., Lu, F., & Lu, Z. (2017). Investigation on prevalence of *Listeria* spp. and *Listeria monocytogenes* in animal-derived foods by multiplex PCR assay targeting novel genes. *Food Control*, 73, 704-711
- Vera, A., González, G., Domínguez, M., & Bello, H. (2013). Principales factores de virulencia de *Listeria monocytogenes* y su regulación. *Revista chilena de infectología*, 30(4), 407-416.
- World Health Organization. (2015). *WHO estimates of the global burden of foodborne diseases: foodborne disease burden epidemiology reference group 2007-2015*. World Health Organization.
- Zúñiga Carrasco, I. R., & Caro Lozano, J. (2017). Enfermedades transmitidas por los alimentos: una mirada puntual para el personal de salud. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología*, 37(3), 95-104.