



Universidad de Concepción del Uruguay

Facultad de Ciencias Médicas

Centro Regional Rosario

DETECCIÓN DE LISTERIA MONOCYTOGENES EN EMBUTIDOS SECOS COMERCIALIZADOS EN ROSARIO

Autor: GABRIELA LAURA VIVAS

Tesis presentada para completar los requisitos del plan de estudios de la
Licenciatura en Bromatología.

Director de tesis: Bioq. Guillermo Ebner

Rosario - 2024

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
MARCO TEÓRICO	5
JUSTIFICACIÓN	15
ANTECEDENTES	17
OBJETIVOS	19
HIPÓTESES	20
MATERIALES Y MÉTODOS	21
RESULTADOS	38
DISCUSIÓN	42
CONCLUSIONES	43
BIBLIOGRAFÍA	44

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Figura 1: <i>Listeria monocytogenes</i> en Agar <i>Listeria</i> Ottaviani Agosti	24
Figura 2: <i>Listeria monocytogenes</i> en agar Oxford	25
Figura 3: <i>Listeria monocytogenes</i> agar SIM	26
Figura 4: Esquema de la prueba de CAMP	29
Figura 5: Prueba de CAMP	30
Figura 6: Test de pruebas bioquímicas Microgen ID <i>Listeria</i>	31
Imagen 7: Control de calidad utilizando cepas control	32
Figura 8:: Interpretación de los resultados del test Microgen <i>Listeria</i> -ID	32
Figura 9: Interpretación de la reacción de hemolisina	33
Figura 10: Formulario de informe	34
Figura 11: Informe generado por Microgen Identification System	35
Figura 12: Informe de serología de <i>L. monocytogenes</i> emitido por ANLIS-MALBRÁN	37
Gráfico 1: Porcentaje de Presencia y Ausencia de <i>Listeria monocytogenes</i> en embutidos secos	38
Tabla I: Distribución de la presencia y ausencia de <i>Listeria monocytogenes</i> en embutidos secos	38
Tabla II: Resultados de la detección de <i>Listeria monocytogenes</i> en embutidos secos	39

RESUMEN

En el presente estudio se analizaron 47 muestras de embutidos secos (salames, salamines, chorizos secos, longaniza) de distintas marcas obtenidas al azar de comercios habilitados para su comercialización en la ciudad de Rosario durante el año 2024, con la finalidad de detectar la presencia de *Listeria monocytogenes*. El análisis microbiológico se realizó según la Norma ISO 11290:2017. Se aisló *L. monocytogenes* en 7 muestras (15 %), lo que destaca la importancia de la vigilancia microbiológica en estos productos listos para el consumo. El estudio tiene como propósito identificar la presencia del microorganismo en productos comúnmente consumidos y evaluar la necesidad de implementar medidas de control más estrictas para garantizar la seguridad alimentaria.

INTRODUCCIÓN

La listeriosis es una enfermedad transmitida por alimentos que ha cobrado creciente importancia en salud pública debido a su elevada tasa de letalidad, su impacto en grupos vulnerables y su vínculo con alimentos listos para el consumo.

Ha surgido como una de las principales enfermedades transmitidas por los alimentos durante los últimos 40 años, después de que en 1981 se detectara un brote de listeriosis en Nueva Escocia, Canadá, que se originó en una ensalada de col contaminada (Schlech et al., 1983). Sin embargo, el descubrimiento del agente causal de la listeriosis, *Listeria monocytogenes*, se remonta a mediados de la década de 1920, cuando E. G. D. Murray y James Pirie documentaron, de forma independiente, casos detallados de listeriosis en animales pequeños (Rocourt y Buchrieser, 2007). La enfermedad estaba causada por una bacteria grampositiva, inicialmente denominada *Bacterium monocytogenes* por Murray y *Listerella* por Pirie. Al reconocer que ambos estudiaban el mismo microorganismo, combinaron los nombres y la llamaron *Listerella monocytogenes*. Posteriormente, por razones taxonómicas, el nombre fue cambiado a *Listeria monocytogenes*. Jim McLauchlin ha recopilado un relato fascinante del descubrimiento de *L. monocytogenes* (McLauchlin, 1997). El primer caso retrospectivo documentado de listeriosis humana involucró a un soldado que sufrió meningitis al final de la Primera Guerra Mundial, y hay una sugerencia en la literatura de que la listeriosis puede haber sido la causa de los 17 embarazos fallidos de la Reina Ana (Doyle, Diez-Gonzalez y Hill, 2019). Entre 1930 y 1950, sólo se informaron unos pocos casos de listeriosis humana. En la actualidad, la incidencia estimada de listeriosis en la mayoría de los países desarrollados es de 2 a 5 casos por cada 1.000.000 de habitantes, y se calcula

que en los Estados Unidos se producen cerca de 1.600 casos al año (Brusa et al., 2020). La aparición de listeriosis durante los últimos 50 años es el resultado de interacciones complejas entre diversos factores que reflejan cambios en los patrones sociales, tecnológicos y de salud pública, los cuales han influido tanto en la exposición como en la vulnerabilidad de la población a *Listeria monocytogenes*. Entre estos factores se incluyen:

- Mejoras en la medicina, la salud pública, el saneamiento y la nutrición que han dado lugar a una mayor esperanza de vida, en particular en los países desarrollados, y con ello, a una mayor proporción de personas inmunocomprometidas debido al envejecimiento poblacional y al uso extendido de tratamientos inmunosupresores para el manejo de diversas patologías.
- Transformaciones significativas en los sistemas de producción y conservación de alimentos, la distribución nacional e internacional en constante expansión de alimentos y un mayor uso de la refrigeración como medio principal de conservación de alimentos.
- Cambios en los hábitos alimentarios, incluida una mayor demanda de los consumidores de alimentos listos para consumir, preparados sin conservantes, frescos, listos para consumir, refrigerados y preparados rápidamente con una cocción mínima o nula antes del consumo.
- Uso ampliado de antiácidos y medicamentos supresores del ácido gástrico.
- Métodos de diagnóstico mejorados y una mayor vigilancia de la salud pública.

La tasa de mortalidad ha generado una verdadera "histeria" por la "*Listeria*", tanto en las autoridades sanitarias como en los consumidores (Rey et al., 2019). Sin embargo, debido a las características del microorganismo, no es realista esperar que todos los alimentos estén libres de *Listeria*. Esto ha generado un debate continuo sobre las diversas estrategias para la prevención de la listeriosis y la regulación de *L. monocytogenes* en los alimentos. Desde 1985, se han llevado a cabo numerosas investigaciones para identificar las vías de contaminación, el comportamiento de este patógeno en una amplia gama de alimentos y diversas estrategias de intervención microbiana, incluido el uso de inhibidores del crecimiento de *Listeria*, el procesamiento térmico y no térmico y la pasteurización posterior al envasado. Las investigaciones epidemiológicas de los brotes han ayudado a identificar los vehículos de transmisión y han dado lugar a una lista cada vez mayor de alimentos listos para el consumo que se han asociado con los brotes. La investigación básica sobre la genética, la biología molecular y las respuestas inmunológicas de los animales y los seres humanos a *L. monocytogenes* ha proporcionado información detallada sobre las características de virulencia de este fascinante patógeno.

La listeriosis es una enfermedad de transmisión predominantemente alimentaria y, aunque la mayoría de los casos son esporádicos, también se producen brotes. No obstante, la investigación de estos brotes resulta problemática debido al largo período de incubación de la enfermedad, que a menudo dificulta la recuperación de alimentos contaminados para su análisis microbiológico.

MARCO TEÓRICO

La listeriosis es una enfermedad de baja frecuencia transmitida por los alimentos que provoca pocos o ningún síntoma en personas que se encuentran en buenas condiciones de salud, pero supone una gran preocupación para la salud pública debido a la gravedad en la población de riesgo (embarazadas, niños recién nacidos, adultos mayores a 65 años y personas inmunosuprimidas), la alta tasa de letalidad de 20 a 30 % y el largo tiempo de incubación de hasta 70 días (ANMAT, 2024).

La bacteria causante de la enfermedad, *Listeria monocytogenes*, es ubicua en el medio ambiente y puede contaminar los alimentos en el origen, durante la preparación o luego de la cocción.

Por su capacidad de crecer en ambientes fríos y adherirse a diversas superficies formando biofilms, *Listeria* puede persistir en las superficies dónde se elaboran alimentos, dificultando su control en plantas de elaboración, constituyendo un gran desafío para los establecimientos elaboradores.

Modo de transmisión

La transmisión se produce principalmente a través de la ingesta de alimentos contaminados con la bacteria *Listeria monocytogenes*, como vegetales crudos, leche y derivados lácteos sin pasteurizar, carnes no cocinadas o poco cocinadas y algunos alimentos procesados (ciertos tipos de quesos blandos sin pasteurizar, carnes procesadas como fiambres, salchichas cocidas, patés, pescados y mariscos ahumados, entre otros).

Otros mecanismos de transmisión son el contacto directo con animales infectados o sus tejidos, durante las labores de asistencia al parto, las necropsias

o las tareas realizadas en mataderos, así como por contacto con excrementos de animales infectados, con materiales contaminados (p.ej. suelo) y por la inhalación de bioaerosoles (Agencia Catalana de Salud Pública, 2022).

La infección puede ocurrir de madre a hijo por vía transplacentaria durante la gestación o durante el parto (transmisión perinatal). Las madres de los recién nacidos infectados pueden dispersar el agente infeccioso con secreciones vaginales y orina de 7 a 10 días después del parto. Asimismo las personas infectadas pueden excretar la bacteria en las heces durante varios meses.

La enfermedad puede presentarse como casos aislados o en forma de brotes. Incluso brotes intrahospitalarios de la enfermedad han sido descritos, posiblemente atribuidos a la transmisión por equipos y /o materiales contaminados con la bacteria.

La transmisión cutánea ha sido reportada excepcionalmente en veterinarios y personas que trabajan en ámbitos rurales, luego del contacto directo con secreciones que pueden producirse a causa de la preñez del ganado.

Algunos animales no presentan síntomas pero son "portadores" de la bacteria en sus intestinos, pudiendo contaminar los productos cárnicos y lácteos que de ellos se obtengan.

Numerosos artrópodos, tales como las garrapatas y las moscas, son portadores de la bacteria y podrían actuar como vectores.

Agente etiológico: *Listeria monocytogenes*

Se conocen diferentes especies del género *Listeria*. *L. monocytogenes* permanece como la especie de mayor importancia clínica, con 13 serotipos que pueden producir enfermedad.

Es un bacilo corto, Gram positivo, no formador de esporas, anaerobio facultativo. Es móvil por flagelos a 25 °C pero no a 35 °C, temperatura a la cual sus flagelos se inactivan. Es un microorganismo termolábil con un punto de muerte térmica de 58°C por 10 minutos y no tiene capacidad de sobrevivir a temperaturas de pasteurización (71°C, 15 segundos).

La bacteria tiene características particulares que le permiten sobrevivir en condiciones adversas:

- Si bien tiene un crecimiento óptimo a 37°C, es un microorganismo psicrótrofo con un rango de temperatura de crecimiento: 0 a 45°C, confiriéndole la particularidad de desarrollarse a temperaturas de refrigeración.
- Es capaz de sobrevivir al congelamiento (temperatura de -18°C).
- Crece en un rango de pH entre 4,4 y 9,4.
- Crece a una actividad de agua (aW) mayor a 0,92 y puede sobrevivir durante períodos de tiempo prolongados en productos con baja actividad de agua permitiéndole sobrevivir a la desecación.
- La bacteria es halotolerante: crece entre 10% y 20% de cloruro de sodio y puede sobrevivir a concentraciones mayores de 25%.
- Tiene la capacidad de adherirse a distintas superficies y formar biofilms.

Al tratarse de un microorganismo capaz de desarrollarse a bajas temperaturas puede persistir por largos períodos de tiempo en alimentos, utensilios y equipos, como por ejemplo heladeras y cámaras de frío. También es capaz de sobrevivir en condiciones de congelamiento a -18°C durante varias semanas, en distintas matrices alimentarias.

El reservorio principal es la tierra, el forraje, el agua, el lodo, el alimento para el ganado, los granos, semillas, ensilados, animales infectados (ganado vacuno, ovino, aves, roedores y peces). También se ha aislado de animales y personas sanas portadoras.

La dosis infectiva no se conoce, se encuentra condicionada por el estado inmunitario de la persona, por la virulencia de la bacteria y por la matriz del alimento, entre otros factores.

Se identificó que en algunos brotes, la dosis infectiva fue algo mayor a 100 UFC/g mientras que en otros se estimó en un valor mucho menor.

Biofilms

Un biofilm es una matriz polimérica compuesta por células bacterianas, exopolisacáridos, proteínas y ácido nucleico. Los biofilms le permiten a las bacterias resistir a las condiciones de estrés, protegerse de la acción de la radiación UV, de ácidos, de sustancias antimicrobianas, de la salinidad y de la desecación y disminuyen la eficacia de los procedimientos de desinfección y descontaminación. La efectividad de los desinfectantes depende de la edad del biofilm (en días) y de la matriz de los restos de alimentos que pudieran estar en la superficie (la grasa generalmente actúa protegiendo a la bacteria).

Mecanismo de acción

Listeria monocytogenes llega al intestino y penetra las células intestinales formando fagosomas. En el interior de la célula intestinal el fagosoma se lisa y las bacterias se replican en el citoplasma, luego se movilizan y se diseminan célula a célula. Desde la célula intestinal los microorganismos logran llegar al torrente sanguíneo y son transportados por la sangre a otros órganos. Dependiendo de la respuesta de los linfocitos T pueden llegar al cerebro y provocar meningitis, encefalitis y abscesos cerebrales. Si la persona infectada se encuentra embarazada puede infectar placenta y afectar al feto, ocasionando abortos o muerte fetal.

Los anticuerpos no confieren inmunidad a posteriores infecciones debido a la propagación de *Listeria monocytogenes* de una célula a otra.

Alimentos asociados

Los alimentos relacionados con la listeriosis son, en su gran mayoría, productos que se adquieren listos para consumir y que no son sometidos a una cocción por parte del consumidor, algunos de los más frecuentes son:

- Fiambres y embutidos (jamón, salame, salchicha, mortadela).
- Quesos blandos, semiblandos y madurados con hongos (ej Brie, camembert, feta, azul, otros) con más de 50% de humedad, no pasteurizados o que se han contaminado posteriormente a su pasteurización.
- Germinados y brotes crudos o insuficientemente cocidos.
- Frutas y verduras sin lavar.

- Jugos, licuados o batidos de frutas preparados en comercios de alimentos.
- Productos lácteos sin pasteurizar (leche, quesos, yogurt, manteca, helados).
- Carnes y pescados crudos o insuficientemente cocidos (ej pescado ahumado; sushi, otros).
- Vegetales crudos envasados o vegetales congelados envasados.

Estos alimentos se contaminan frecuentemente al ser preparados en comercios de alimentos, dónde muchas veces no se implementan medidas de higiene adecuadas durante su preparación y se conservan en equipos de frío por un tiempo superior al recomendado, propiciando la multiplicación de la bacteria. Asimismo el espacio reducido y la gran cantidad de alimentos que se preparan suele predisponer la ocurrencia de contaminaciones cruzadas.

Presentación clínica

Se estima que hasta un 5 % de la población podría ser portadora asintomática de *L. monocytogenes*.

El período de incubación puede ser de 3 a 70 días con un promedio de 3 semanas. Al ser un rango tan amplio y variable hace que resulte difícil identificar el alimento que causa el origen de la infección.

La enfermedad tiene dos formas de presentación:

- Listeriosis no invasiva:

Se presenta con un cuadro gastrointestinal en individuos en buen estado de salud. Los síntomas pueden incluir fiebre, diarrea, dolor de cabeza, mialgia y

fatiga. El período de incubación suele ser corto: de pocas horas a 2 o 3 días. La enfermedad se autolimita y tiene buen pronóstico.

- **Listeriosis invasiva:**

Afecta a la población de riesgo (mujeres embarazadas y recién nacidos, personas mayores de 65 años e inmunocomprometidos), los síntomas pueden ser los mismos que en la forma no invasiva pero pudiendo progresar a cuadros más graves como meningitis, septicemia, endocarditis y hepatitis entre otros (Farber et al., 1988). En las mujeres embarazadas los síntomas pueden ser leves, similares a los de la gripe, pero sin embargo la infección puede resultar en aborto espontáneo, parto prematuro y muerte fetal. El período de incubación es muy variable, entre 3 días a 3 meses.

El diagnóstico se confirma por el aislamiento del agente infeccioso del líquido cefalorraquídeo, sangre, líquido amniótico, placenta, meconio, loquios, material de lavado gástrico y de otros sitios de infección.

Medidas preventivas

En general, las medidas para prevenir la listeriosis son las mismas que para prevenir otras enfermedades de transmisión alimentaria:

- Mantener la higiene al momento de preparar y consumir alimentos: lávese las manos con agua y jabón durante al menos 20 segundos.
- Lavar cuidadosamente utensilios de cocina y superficies en contacto con alimentos.
- Evitar la contaminación cruzada entre alimentos crudos y cocidos o listos para consumir, mantenerlos separados durante la compra, preparación y conservación en heladera o freezer.

- Mantener la heladera en buenas condiciones de higiene, realice limpieza periódica separando los alimentos crudos de los cocidos, preferentemente en recipientes cerrados.
- Prefiera alimentos recién cocinados o preparados.
- Cocinar completamente los alimentos antes de consumirlos: principalmente carnes y mariscos; brotes y germinados; vegetales crudos y cocidos congelados.
- Cocinar los embutidos completamente antes de consumirlos o elija sólo los que llevan cocción y cocínelos bien (morcilla, chorizo fresco, salchicha tipo Viena).
- Lavar con abundante agua potable las frutas y verduras que va a consumir y que utilizará para elaborar ensaladas, jugos, batidos y licuados.
- Evitar consumir alimentos listos para el consumo (carnes frías, fiambres, embutidos, mariscos fríos, ensaladas de frutas y/o verduras con o sin carnes, arrollados, sándwich, paté o picadillo no envasado) preparados en comercios de alimentos.
- Preparar ensaladas, sandwiches y arrollados en su hogar.
- Al consumir alimentos elaborados fuera del hogar (ej en restaurantes, rotiserías, eventos y otros comercios de alimentos) elegir alimentos que se sirven bien cocidos, y calientes.
- Elegir productos lácteos que hayan sido pasteurizados.
- Seleccionar quesos blandos, semiblandos y madurados con hongos pasteurizados y de elaboradores habilitados.
- Refrigerar los alimentos preparados que no se consuman inmediatamente.

- Al consumir alimentos que no hayan sido elaborados en el momento, asegúrese que hayan sido conservados en refrigeración por no más de 24 horas.
- En caso de recalentar alimentos ya cocidos, hacerlo completamente hasta que todas sus partes estén bien calientes y humeantes.
- Se recomienda evitar el contacto con materiales que puedan ser infectantes, como fluidos, placentas y material de abortos. Tener especial precaución al realizar actividades que impliquen contacto con animales o sus fluidos o muestras de material de abortos, o sangre, líquido cefalorraquídeo, etc. donde pueda estar la bacteria.
- Evitar utilizar materia fecal para abono de huertas de plantas comestibles.

La prevención y control de la multiplicación de la bacteria en el producto final plantea desafíos considerables, dada la ubicuidad de la bacteria, su gran resistencia a los métodos de conservación habituales, como la sal, el humo o la acidez, y su capacidad de sobrevivir y crecer a temperaturas de refrigeración. En este contexto deberán aplicarse prácticas higiénicas de elaboración óptimas.

Alimento listo para el consumo

Un alimento listo para el consumo es la elaboración culinaria resultado de la preparación con o sin cocción de uno o varios productos alimenticios de origen animal o vegetal, adquirido listo para consumir y que no será sometido a cocción por parte del consumidor antes de ingerirlo.

Comercio de alimentos

Un comercio de alimentos es el establecimiento donde se almacenan, elaboran, fraccionan y/o acondicionan alimentos destinados a la venta directa al consumidor, ya sea para ser retirados del local o para consumirlos en el mismo.

Vigilancia alimentaria

La Listeriosis se considera un evento de notificación obligatoria en el año 2022, a partir de la actualización de la nómina de eventos de notificación obligatoria y el Manual de Normas y Procedimientos de Vigilancia y Control de Eventos de Notificación Obligatoria, en el marco de la Ley Nacional 15465. Los casos confirmados deben notificarse al Sistema Integrado de Información Sanitaria Argentino (SISA).

Ante el caso confirmado es importante realizar una investigación que incluya la encuesta alimentaria inmediata.

Todo evento epidemiológico con indicio de un alimento sospechoso, deberá ser comunicado a la autoridad sanitaria bromatológica competente a fin de realizar la investigación correspondiente con la mayor celeridad posible, con el objeto de identificar los alimentos involucrados y prevenir la aparición de nuevos casos. Para esto, resulta fundamental el trabajo articulado entre los efectores de salud, las áreas de bromatología, epidemiología, laboratorios, entre otros, que permita realizar acciones integrales, oportunas y eficientes.

Algunas características de la enfermedad invasiva como el largo período de incubación dificultan la detección temprana de los brotes.

JUSTIFICACIÓN

Listeria monocytogenes es un patógeno alimentario de gran relevancia por su capacidad para causar la enfermedad listeriosis, una enfermedad que puede tener consecuencias graves para la salud. Este microorganismo presenta una notable persistencia a condiciones adversas, como las bajas temperaturas, lo que le permite sobrevivir y proliferar en una amplia variedad de alimentos, especialmente en productos refrigerados. Estas características han convertido a *L. monocytogenes* en una preocupación constante para la industria agroalimentaria desde hace más de 35 años, lo que ha llevado a la necesidad de implementar medidas preventivas eficaces.

Los alimentos identificados con alto riesgo de causar listeriosis son los alimentos listos para el consumo, como embutidos, salchichas, leche líquida no pasteurizada, mariscos ahumados y los crustáceos cocidos (FDA, USDA, & CDC, 2003). En particular, los embutidos secos han ganado relevancia como vehículos de transmisión de *L. monocytogenes*. Estos productos han sido sometidos a un proceso de deshidratación parcial para prolongar su conservación, pero debido a que se consumen sin tratamiento térmico previo y pueden presentar condiciones que favorecen la supervivencia del patógeno, su inocuidad representa un desafío importante.

En Argentina, el Código Alimentario Argentino exige la ausencia de *Listeria monocytogenes* en 25 gramos de producto (Código Alimentario Argentino, 2024). Por esta razón, resulta esencial reforzar las estrategias de prevención, detección y control que garanticen la seguridad de estos alimentos.

La presente tesis surge de la necesidad de implementar, en el Instituto del Alimento -repartición perteneciente de la Secretaría de Salud Pública de la Municipalidad de Rosario-, la metodología oficial para la detección de *Listeria monocytogenes*, establecida en el Código Alimentario Argentino. Este estudio se enfoca en embutidos secos, productos de alta prevalencia en la dieta, cuya vigilancia es fundamental para reducir la incidencia de listeriosis, y con ellos, los costos asociados en materia de salud pública.

ANTECEDENTES

(Pellicer et al, 2002)

Aislamiento e identificación de *Listeria monocytogenes* y *Listeria* spp. en embutidos secos obtenidos de mercados de la ciudad de La Plata, Argentina

En el presente trabajo se analizaron 60 muestras de embutidos secos (50 de salamines y 10 de chorizos tipo candelario) obtenidas al azar de mercados habilitados para su comercialización, con la finalidad de evidenciar la presencia de bacterias del género *Listeria* (*Listeria monocytogenes* y *Listeria* spp). Los resultados obtenidos en salamines fueron los siguientes: 10 (20%) aislamientos de *Listeria* spp, siendo caracterizadas 1 (2%) cepa como *L. monocytogenes* tipo 1, 7 (14%) cepas como *L. innocua* y 2 (4%) cepas como *L. weishimeri*. En chorizos tipo candelario se hallaron 6 (60%) aislamientos de *Listeria* spp, siendo caracterizadas 2 (33%) cepas como *L. monocytogenes* tipo 1 y 4 (66%) cepas como *L. innocua*. Los porcentajes totales de aislamientos fueron 26,6% de *Listeria* spp., 5% de *L. monocytogenes* tipo 1, 18,3% de *L. innocua* y 3,3% de *L. weishimeri*. Con los resultados obtenidos se considera que se deberán desarrollar e implementar metodologías de proceso y control con la finalidad de garantizar la inocuidad de estos productos.

(Parrilla Valero et al, 2014)

Estudio de la incidencia de listeriosis en España

Estudio descriptivo retrospectivo, basado en la información documental disponible, sobre los casos de listeriosis ocurridos en España en 2001-2007, con el objetivo de conocer la carga y la evolución de esta enfermedad en nuestro país. Partiendo de diversas fuentes informativas, en total se recogió la información epidemiológica de 1242 casos de listeriosis, lo que supone una tasa de incidencia media de 0,56 casos por 100.000 habitantes y año, que consideramos el valor estimado global para España. La incidencia ha mostrado una tendencia anual ascendente estadísticamente significativa ($p < 0,001$), y ha sido muy superior a la notificada en España (0,16) mediante el Sistema de Información Microbiológica, de carácter voluntario, lo que evidencia la infradeclaración existente. La inclusión de la listeriosis en el Sistema de Enfermedades de Declaración Obligatoria permitiría dimensionar su presencia, así como conocer las características de la afectación humana y mejorar su prevención y control.

OBJETIVOS

Objetivo general

Determinar la presencia de *Listeria monocytogenes* en embutidos secos comercializados en Rosario.

Objetivos específicos

- Proporcionar información sobre *Listeria monocytogenes* y su impacto en la salud.
- Implementar la Norma ISO 11290:2017 Método horizontal para la detección y el recuento de *Listeria monocytogenes* y de *Listeria* spp. Parte 1: Método de detección y Parte 2: Método de recuento.
- Evaluar la conformidad de los productos con la Norma ISO 11290:2017.
- Proponer medidas de control y prevención basadas en los resultados obtenidos

HIPÓTESES

Los embutidos secos comercializados en Rosario no cumplen con el criterio de aceptación para el parámetro *Listeria monocytogenes* establecido en el Artículo 302 del Código Alimentario Argentino.

MATERIALES Y MÉTODOS

En el presente estudio descriptivo de corte transversal, diseño metodológico de tipo observacional y enfoque cuantitativo, se investigó la presencia de *Listeria monocytogenes* en embutidos secos comercializados en la ciudad Rosario en el año 2024.

La recolección de las 47 muestras se llevó a cabo mediante un muestreo aleatorio simple en comercios de alimentos habilitados para su comercialización.

Las muestras fueron analizadas en el laboratorio de Microbiología del Instituto del Alimento de la Municipalidad de Rosario.

El análisis microbiológico se realizó según Norma ISO 11290:2017, metodología establecida en el Artículo 302 del Código Alimentario Argentino.

Materiales:

Autoclave

Estufa de cultivo a 30 °C

Estufa de cultivo a 37 °C

Baño termostático a 44 °C

Ansas

Tips estériles de 100 uL, 1 mL y 5 mL

Micropipeta de volumen fijo 100 uL

Micropipeta de volumen fijo 1 mL

Micropipeta de volumen variable 500-5000 uL

Placas de Petri estériles descartables

Microscopio

Heladera

Mechero

Caldo half-Fraser

Caldo Fraser

Agar Listeria segùn Ottaviani y Agosti (ALOA)

Agar Oxford

Agar triptona soja extracto de levadura (TSYEA)

Portaobjetos

Aceite de inmersión para microscopio

Solución de peróxido de hidrógeno al 3% (10 volúmenes)

Solución fisiológica

Kit de coloración de Gram

Agar SIM

Agar sangre de oveja

Cepa *Listeria monocytogenes*

Cepa *Listeria innocua*

Cepa *Listeria ivanovii*

Cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Cepa *Rhodococcus equi* ATCC 6939

Test para la identificación bioquímica de *Listeria* Microgen ID

Método:

Detección de *Listeria monocytogenes*

Suspensión inicial:

Añadir 25 g de muestra a 225 ml del caldo de enriquecimiento primario para obtener una dilución diez veces mayor y homogeneizar. Precalentar el caldo de enriquecimiento primario a temperatura ambiente antes de usarlo. Utilizar como diluyente el caldo Half-Fraser.

Las especies de *Listeria* pueden encontrarse en pequeñas cantidades y suelen estar acompañadas de un mayor número de otros microorganismos, por lo que es necesario realizar un enriquecimiento selectivo. Esto permite también detectar *Listeria* lesionadas o estresadas.

Enriquecimiento primario:

Incubar el caldo de enriquecimiento primario a 30 °C durante 25 ± 1 horas.

Enriquecimiento secundario:

Tras la incubación, transferir 0,1 ml del cultivo al caldo de enriquecimiento secundario (caldo Fraser) contenido en un tubo o frasco de 10 ml.

Incubar el caldo inoculado a 37 °C durante 24 ± 2 horas.

Aislamiento e identificación:

Desde el enriquecimiento primario en caldo Fraser, tomar una muestra del cultivo incubado con un ansa de inoculación para sembrar la superficie del agar Listeria según Ottaviani y Agosti y del agar Oxford, segundo medio selectivo.

Repetir los pasos anteriores, desde el enriquecimiento secundario en caldo Half-Fraser.

Incubar las placas invertidas a 37 °C durante un total de 48 ± 2 horas.

En agar Listeria según Ottaviani y Agosti Considerar como sospechosas de *L. monocytogenes* y *L. ivanovii* aquellas colonias verde-azuladas rodeadas por un halo opaco y como sospechosas de *Listeria spp.* aquellas colonias verde-azuladas con o sin halo opaco.

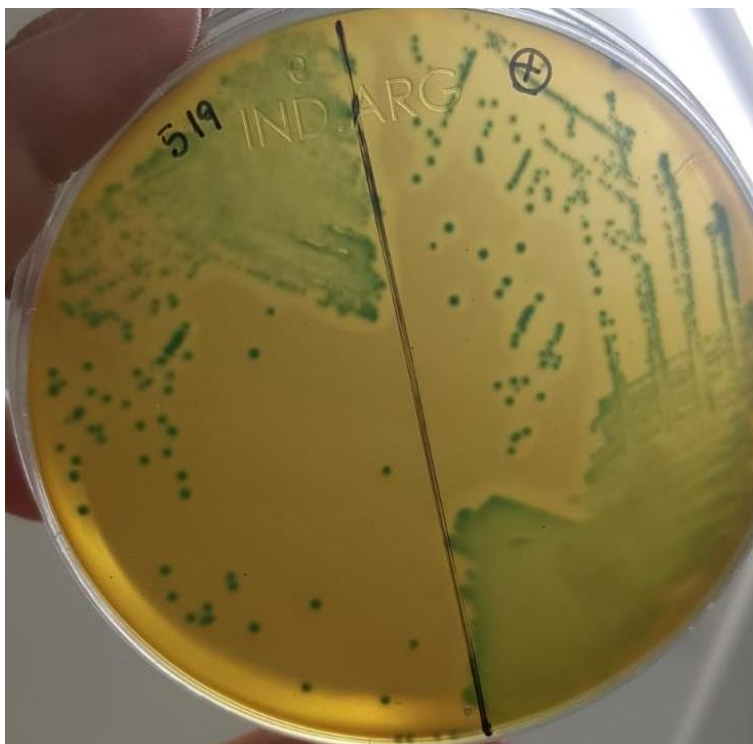


Figura 1: *Listeria monocytogenes* en Agar Listeria Ottaviani Agosti: colonias típicas color verde - azulado rodeadas por un halo opaco. *Listeria monocytogenes* presuntiva (izquierda) y cepa control de *L. monocytogenes* (derecha).

En agar Oxford, *L. monocytogenes* forma colonias de color verde oliva con un centro negro hueco y están rodeadas por zonas negras.



Figura 2: *Listeria monocytogenes* en agar Oxford: colonias típicas pequeñas (aproximadamente 1mm) y rodeadas por un halo de oscurecimiento.

Selección de colonias para confirmación:

Seleccionar al menos una colonia presuntamente de *L. monocytogenes* y extender sobre la superficie de placas presecadas de Agar triptona soja extracto de levadura (TSYEA), agar no selectivo, de manera que desarrollen colonias aisladas.

Incubar a 37 °C (6.3) durante 18 a 24 horas.

Las colonias típicas de *Listeria spp.* en TSYEA tienen un diámetro de 1 mm a 2 mm, son convexas, incoloras y opacas, con un borde entero. Al sostener las placas a la luz (artificial o natural) en un ángulo de aproximadamente 45 grados, las colonias exhiben un color azul grisáceo y una superficie granular.

Confirmación de *L. monocytogenes*:

Tinción de Gram: Realizar una preparación microscópica a partir de una colonia aislada. Colocar una gota de solución fisiológica en un portaobjetos y con un ansa diseminar la colonia sobre la superficie. Fijar el extendido pasando 3 veces

el lado del portaobjeto que no tiene la preparación sobre la llama del mechero. Realizar la técnica de tinción de Gram siguiendo las instrucciones correspondientes al kit comercial utilizado. Las especies de *Listeria* (incluida *L. monocytogenes*) aparecen como bacilos cortos o cocobacilos delgados Gram positivos.

Prueba de la movilidad: A partir de una colonia aislada en TSYEA, sembrar con una aguja de inoculación en agar SIM. Incubar 48 horas a 25°C. *Listeria spp.* da un crecimiento característico en forma de paraguas (umbrella), inmediatamente por debajo de la superficie del agar.

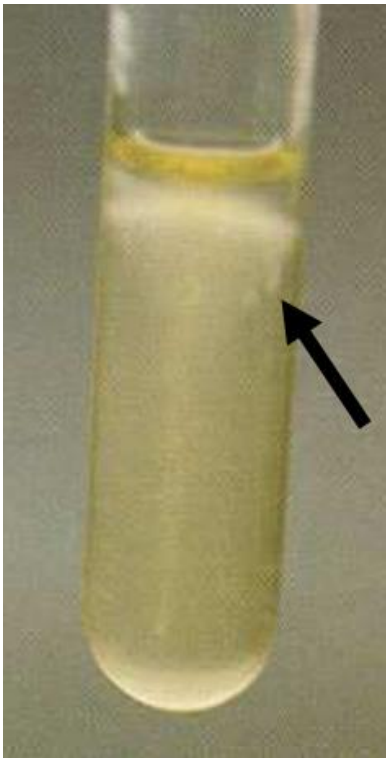


Figura 3: *Listeria monocytogenes* agar SIM: crecimiento en forma de paraguas.

Reacción de catalasa: Tomar una colonia aislada desde TSYEA y suspender en una gota de solución de peróxido de hidrógeno sobre un portaobjetos. La formación inmediata de burbujas de gas indica una reacción positiva.

Si las características morfológicas y fisiológicas son indicativas de *Listeria spp.*, inocular placas de agar sangre para determinar la reacción hemolítica.

En una placa de agar sangre de oveja inocular realizando una línea simple de una cepa α -hemolítica de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y en forma paralela y diametralmente opuesta, otra línea simple de *Rhodococcus equi* ATCC 6939, separadas entre sí a una distancia de 3 a 4 cm. El inóculo debe ser fino y uniforme, que puede obtenerse utilizando un ansa de inoculación colocado en ángulo recto respecto al agar.

Estriar una colonia de la cepa en prueba en una línea simple y perpendicular entre las dos líneas de cultivos de referencia. Las líneas de la cepa en estudio deben estar separadas de las de referencia a una distancia de 1 a 2 mm, para evitar contaminación cruzada. Varias cepas de prueba pueden ser inoculadas en la misma placa. Simultáneamente estriar cultivos controles de *L. monocytogenes*, *L. innocua* y *L. ivanovii*. Incubar a 37°C durante 18 horas a 24 horas.

Test de hemólisis: Después de la incubación examinar bajo una luz intensa para comparar las cepas de prueba con los controles.

- *L. monocytogenes* (control positivo) muestra zonas estrechas y claras hemólisis.
- *L. innocua* (control negativo) no produce zonas de hemólisis.
- *L. ivanovii* generalmente presenta amplias y claras zonas de hemólisis.

Prueba de CAMP: Se considera reacción positiva una zona acrecentada de β -hemólisis en la intersección de la cepa de prueba y las cepas de *S.aureus* y *R.equi*.

- Una reacción positiva para *R. equi* se observa como una amplia zona (de 5 a 10 mm) de hemólisis en forma de “cabeza de flecha”. La reacción es negativa si se presenta como una pequeña zona de hemólisis débil (alrededor de 1 mm) en la intersección de la cepa de prueba con la zona de difusión de *R.equi*.
- Una reacción positiva para *S.aureus* aparece como una pequeña zona de hemólisis aumentada que se extiende alrededor de 2 mm de la cepa en prueba y dentro de la zona de hemólisis débilmente hemolítica debido al crecimiento de la cepa de *S.aureus*. No ocurre una zona grande de β -hemólisis en la proximidad entre *S.aureus* y *L. monocytogenes*.

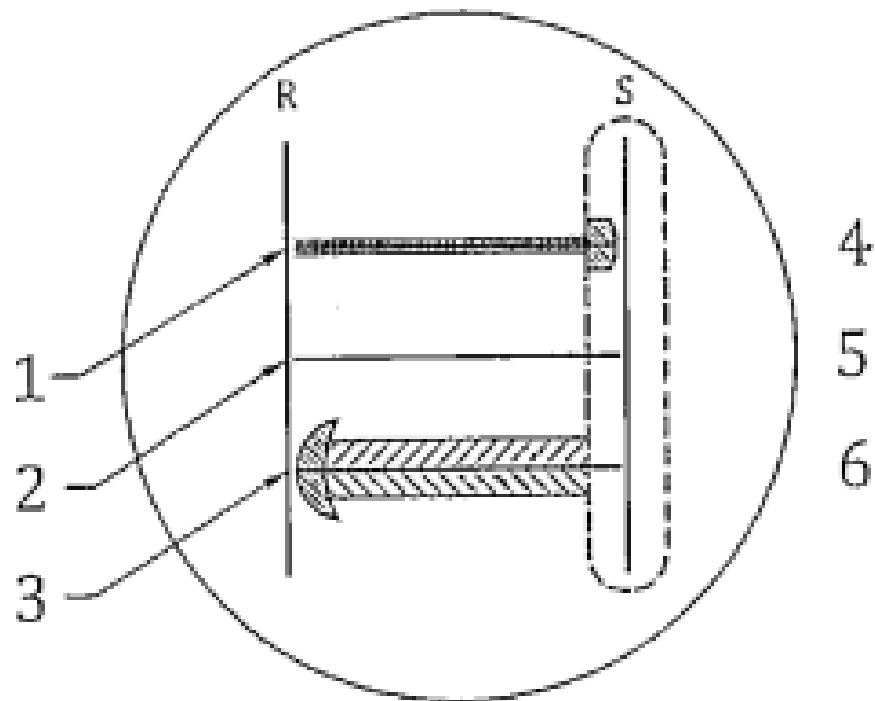


Figura 4: Esquema de la prueba de CAMP: Las líneas verticales representan las estrías de *S. aureus* (S) y *R. equi* (R); Las líneas horizontales representan las estrías de las cepas controles; Las áreas sombreadas indican las ubicaciones de hemólisis aumentada; El área punteada indica la zona de influencia del cultivo de *S. aureus*. Referencias: 1) zonas estrechas de hemólisis, 2) sin zona de hemólisis, 3) zonas amplias de hemólisis, 4) *L. monocytogenes*, 5) *L. innocua*, 6) *L. ivanovii*.

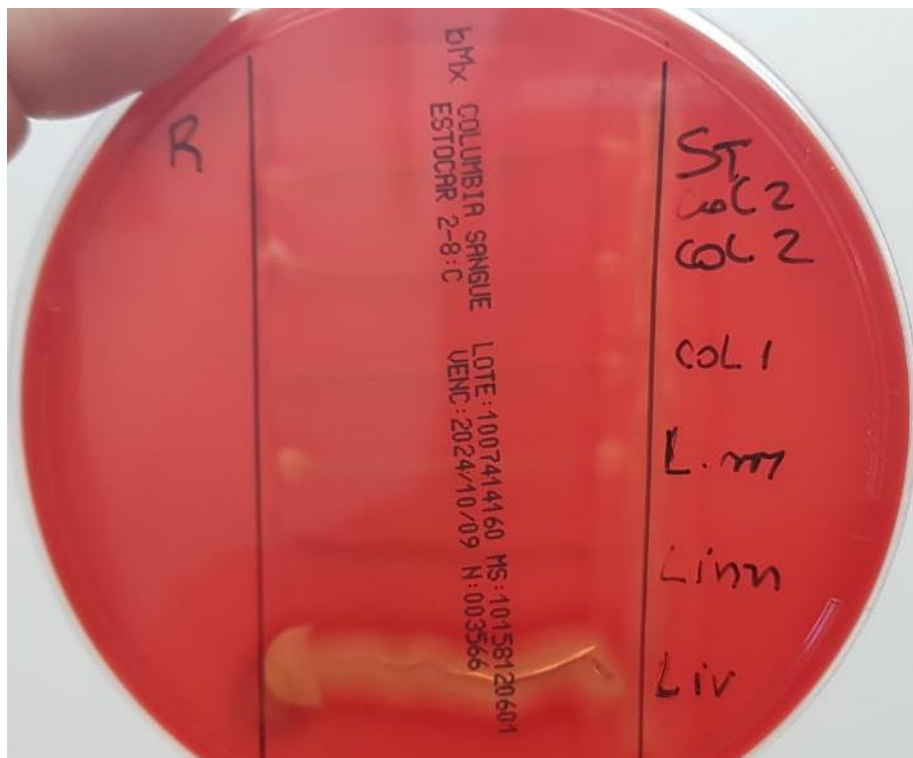


Figura 5: Prueba de CAMP.

Si el aislamiento se confirma como miembro del género *Listeria* (bacilos cortos Gram positivos, móviles a 25°C y catalasa positiva) y en agar sangre de oveja se observa β -hemólisis estrecha con reacción negativa para *R. equi* y positiva para *S. aureus* según *L. monocytogenes*, realizar el test de pruebas bioquímicas Microgen ID *Listeria*.

Kit Microgen ID Listeria: Es un test para la identificación bioquímica de *Listeria*, usado como método de confirmación de colonias.

El sistema Microgen *Listeria*-ID utiliza 12 sustratos estandarizados en microcubetas combinados con el software del Sistema de Identificación Microgen, para identificar miembros del género *Listeria*:

- *Listeria monocytogenes*
- *Listeria welshimeri*

- *Listeria ivanovii*
- *Listeria innocua*
- *Listeria grayi*
- *Listeria seeligeri*

Los organismos mencionados pueden ser identificados a partir de medios selectivos o no selectivos utilizando el sistema Microgen *Listeria*-ID. La identificación se realiza utilizando todas las pruebas recomendadas en los métodos estándar internacionales para la identificación de *Listeria spp.*, sin necesidad de pruebas confirmatorias adicionales.

Para realizar el test, seleccionar una colonia grande y bien aislada de un cultivo de 18 a 24 horas en agar TSYE y emulsificar en un vial con medio de suspensión para *Listeria* (2,5 ml). Mezclar bien (opcionalmente usando un vórtex). La suspensión debe parecer ligeramente turbia y homogénea. Usando una pipeta Pasteur, transferir 4 gotas (aproximadamente 100 µl) de la suspensión bacteriana a cada pozo de la tira de microcubetas y 1 gota del reactivo de hemolisina al pozo 12. Incubar a 35-37 °C durante 18-24 horas. Consultar la *Tabla I* de pruebas para la interpretación de los resultados, visualizados por un cambio de color. Registrar en los formularios de informe.



Figura 6: Test de pruebas bioquímicas Microgen ID *Listeria*.

	E S C	M A N	X Y L	A R L	R I B	R H A	T R E	T A G	G 1 P	M D G	M D M	H E M
<i>L.monocytogenes</i> (ATCC 35152, NCTC 7973)	+	-	-	+	-	+	+	-	-	+	+	+
<i>L.inocua</i> (ATCC 33090, NCTC11288)	+	-	-	+	-	+	+	-	-	+	+	-
<i>L..grayi</i> (ATCC 19120, NCTC 10815)	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-	+	-

Imagen 7: Control de calidad utilizando cepas control.

Pocillo	Sustrato	Reacción	Positivo	Negativo
1	Esculina	Hidrólisis de esculina	Negro	Amarillo
2	Manitol	Fermentación de azúcares específicos produce ácidos, cambiando el indicador Bromocresol Púrpura de púrpura a amarillo.	Amarillo	Púrpura
3	Xilosa			
4	Arabitol			
5	Ribosa			
6	Ramnosa			
7	Trehalosa			
8	Tagatosa			
9	Glucosa-1-Fosfato			
10	Metil-D-Glucosa			
11	Metil-D-Manosa			
12	Hemolisina	Hemólisis de glóbulos rojos de oveja	Líquido homogéneo de color pajizo-marrón. No hay botón de glóbulos rojos en el fondo del pocillo.	Botón de glóbulos rojos en el fondo del pocillo.

Figura 8:: Interpretación de los resultados del test Microgen Listeria-ID.

Interpretación de la reacción de hemolisina: La presencia de una solución clara color pajizo/muy rosado pálido con un botón grande de glóbulos rojos intactos en el fondo del pozo debe interpretarse como una reacción de hemólisis negativa. La presencia de una solución/suspensión turbia de color pajizo-marrón, ya sea sin un botón de glóbulos rojos intactos (hemólisis total) o con un botón de glóbulos rojos mucho más reducido (hemólisis parcial), debe interpretarse como una reacción de hemólisis positiva.



Figura 9: Interpretación de la reacción de hemolisina.

En el formulario de informe, las pruebas bioquímicas están organizadas en tríadas (conjuntos de 3 reacciones), con cada prueba asignada a un valor numérico (1, 2 o 4). La suma de las reacciones positivas de cada tríada forma un único dígito del Código Octal utilizado para determinar la identidad de la especie de *Listeria* que se está identificando. El Código Octal se introduce en el software Microgen Identification System, que genera un informe con los cinco organismos más probables basados en la base de datos seleccionada.

Report Form

LISTERIA – ID
MICROGEN REPORT FORM

MICROGEN
BIO PRODUCTS

Lab. No.	Specimen Type: 50236
	Date: 28/05/24

Reaction	Oxidase	Catalase	Latex Agglut.	Esculin	Mannitol	Xylose	Arabitol	Ribose	Rhamnose	Trehalose	Tagatose	Gluc-1-Phos	M-D-Gluc	M-D-Man	Haemolysis
Result				+	-	-	+	-	+	+	-	-	+	+	+
Reaction Index				4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1
Sum of Positive Reactions				4			5			4			7		

Octal Code: 4547

Final Identification: Excelente ID de L.m.

Figura 10: Formulario de informe.

Microgen Listeria ID Spanish

Detalles de muestra

Fecha 28/01/2024
Referencia de laboratorio Instituto del Alimento
Nombre 50236
Tipo de muestra
Origen (planta/ubicación)

Notas

Introducción de resultados

Código octal 4547

+ ESC Esculin Hydrolysis	- MAN Acid from Mannitol	- XYL Acid from Xylose
+ ARL Acid from Arabinol	- RIB Acid from Ribose	+ RHA Acid from Rhamnose
+ TRE Acid from Trehalose	- TAG Acid from Tagatose	- G1P Acid from Glu-1-Phos
+ MDC Methyl-D-Glucoside	+ MDM Methyl-D-Mannoside	+ HEM Haemolysis

Análisis de identificación

	Listeria monocytogenes	Listeria innocua	Listeria welshimeri	Listeria ivanovii	Listeria seeligeri
Opción de ID seleccionada	Sí	No	No	No	No
Probabilidad	1/1	1/1.456	1/28.250	1/9.773.455	<1/10,000,000
Porcentaje de probabilidad	99,92%	0,08%	<0.01%	<0.01%	<0.01%
Similitud	100%	0,1%	<0.01%	<0.01%	<0.01%
Cepa aislada humana	Sí	No	No	No	No
Pruebas contrarias					
Prueba 1		HEM(0,1%)	HEM(0,1%)	MDM(0,1%)	XYL(99,9%)
Prueba 2			TAG(91%)	XYL(95%)	RHA(0,1%)
Prueba 3				RHA(5%)	MDM(5%)
Pruebas adicionales	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí
Camp Test (S.aureus)	99,9%	0,1%	0,1%	0,1%	98%
Camp Test (E.coli)	0,1%	0,1%	0,1%	99%	0,1%

Comentarios adicionales

Comentarios de identificación

Excelente Identificación de Listeria monocytogenes

La cepa es muy típica y está bien diferenciada del resto de opciones de identificación sugeridas

Figura 11: Informe generado por Microgen Identification System.

Expresión de resultados:

De acuerdo con la interpretación de los resultados, informar si *L. monocytogenes* fue detectado o no detectado en la porción de prueba, especificando la masa en gramos. Esto es, detectado o no detectado en 25 g.

Caracterización adicional de cepas aisladas:

Las cepas de *L. monocytogenes* pueden ser enviadas al laboratorio de referencia nacional Instituto Nacional de Alimentos (INAL), que a su vez las deriva a la Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud "Dr. Carlos G. Malbrán" para una caracterización adicional. El envío debe ir acompañado de toda la información posible sobre la cepa.



Hoja 1/1			
Fecha de informe	17/07/2024	Fecha de recepción	6/6/2024
Nº de entrada	0624/24		
Origen	ALIMENTO		
Aislado de	SALAME PICADO GRUESO		
Material enviado	AISLAMIENTO 889-24		
Estudio solicitado	VIGILANCIA <i>L. monocytogenes</i>		
Derivado por	MARIA SOLEDAD SARNIGUET		
Institución	INSTITUTO NACIONAL DE ALIMENTOS-ANMAT		
Email	mariasoledad.sarnigueta@anmat.gob.ar		

RESULTADOS identificación

Listeria monocytogenes
Serogrupo 1/2b, CC 3, ST 3

Dr. Ariel Gianecini
Servicio Bacteriología Especial
UNR Listeriosis
INEI-ANLIS Malbrán

Biog. Mónica Prieto
Jefa Servicio Bacteriología Especial
UNR Listeriosis
INEI-ANLIS Malbrán

Figura 12: Informe de serología de *L. monocytogenes* emitido por ANLIS-MALBRÁN.

RESULTADOS

Se detectó la presencia de *Listeria monocytogenes* en el 15% en las muestras analizadas. Los datos se presentan en gráfico y tablas que muestran la distribución de *Listeria monocytogenes* en diferentes tipos de embutidos secos.

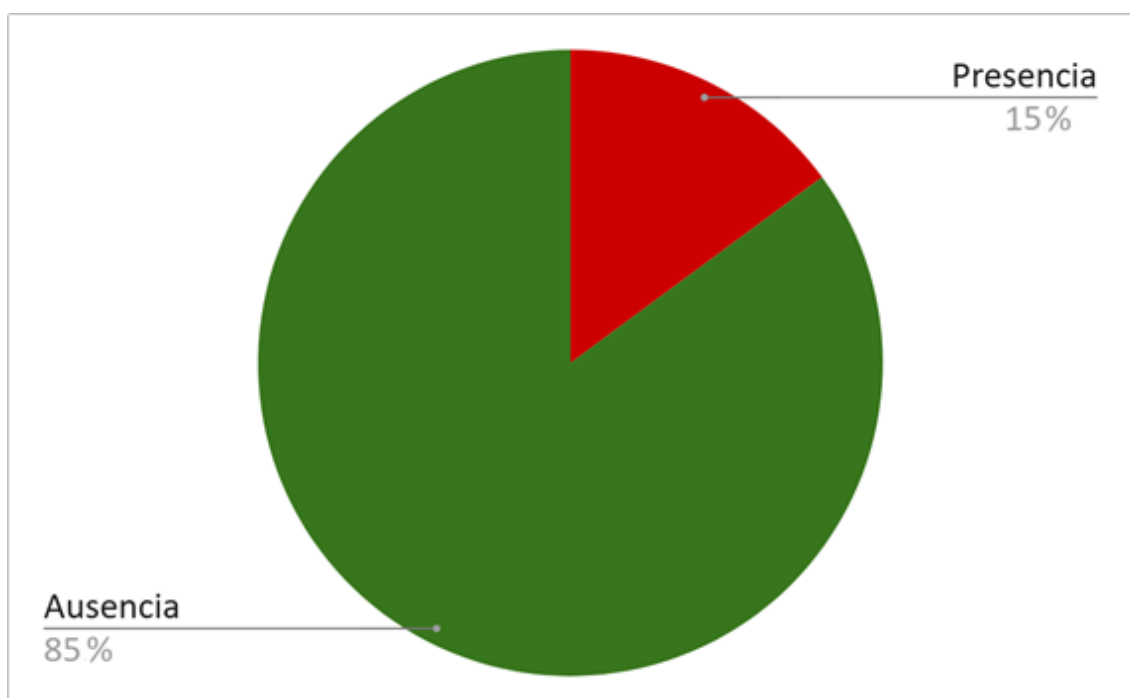


Gráfico 1: Porcentaje de Presencia y Ausencia de *Listeria monocytogenes* en embutidos secos.

Tabla 1: Distribución de la presencia y ausencia de *Listeria monocytogenes* en embutidos secos.

EMBUTIDOS SECOS	Cantidad de muestras	Porcentaje (%)
Presencia	7	15 %
Ausencia	40	85 %
TOTAL MUESTRAS	47	-

Tabla II: Resultados de la detección de *Listeria monocytogenes* en embutidos secos.

Número de muestra	NATURALEZA DE LA MUESTRA	Investigación <i>Listeria monocytogenes</i> en 25g
1	Salame picado fino	Ausencia
2	Salame picado con queso	Ausencia
3	Salame picado grueso	Ausencia
4	Salame picado grueso	Presencia
5	Salame picado grueso	Ausencia
6	Chorizo tipo alemán	Ausencia
7	Salame tipo colono	Ausencia
8	Salamín tipo chacra	Presencia
9	Salamín picado grueso	Ausencia
10	Salamín picado grueso	Ausencia
11	Salamín picado grueso	Ausencia
12	Salamín tandilero	Ausencia
13	Salame	Presencia
14	Salamín picado grueso	Ausencia

15	Salamín de cerdo tipo colono	Ausencia
16	Salame	Ausencia
17	Salame pica fino	Ausencia
18	Salame picado grueso	Ausencia
19	Salame tipo colono	Presencia
20	Salame Premium	Ausencia
21	Salamín picado fino	Ausencia
22	Salamín picado fino	Ausencia
23	Salame con queso	Ausencia
24	Salame	Ausencia
25	Salamín	Presencia
26	Salame	Presencia
27	Salame tipo crespón	Ausencia
28	Salame tipo chacarero	Ausencia
29	Salamín	Ausencia
30	Salame picado grueso	Ausencia
31	Longaniza	Ausencia

32	Salame picado grueso	Ausencia
33	Salamín picado grueso	Ausencia
34	Salamín picado fino	Ausencia
35	Salame picado grueso	Ausencia
36	Salame chacarero picado grueso	Ausencia
37	Salame picado grueso	Ausencia
38	Salame picado grueso	Presencia
39	Salamín	Ausencia
40	Salame con queso	Ausencia
41	Chorizo colorado embutido seco	Ausencia
42	Chorizo a la española	Ausencia
43	Salamín picado fino	Ausencia
44	Salame picado fino	Ausencia
45	Salame tipo serrano	Ausencia
46	Salamín picado grueso	Ausencia
47	Salame tipo fuet	Ausencia

DISCUSIÓN

El presente estudio confirmó una presencia significativa de *Listeria monocytogenes* en los embutidos secos comercializados en Rosario. Estos resultados destacan un riesgo relevante para la salud pública, dado que los embutidos secos son productos ampliamente consumidos, especialmente en la región estudiada. La detección, realizada según la Norma ISO 11290:2017, garantiza la validez técnica de los resultados y reafirma la eficacia de este método en la identificación de patógenos del género *Listeria*.

Los factores que podrían explicar la presencia de *Listeria monocytogenes* incluyen deficiencias en las prácticas de higiene durante la producción, manipulación y almacenamiento de los productos.

En comparación con estudios previos, las observaciones de este estudio coinciden con investigaciones realizadas, donde se ha detectado la presencia de *Listeria monocytogenes* en productos cárnicos como los embutidos secos.

Los resultados obtenidos permiten abordar el problema planteado en los objetivos del trabajo desde un enfoque integral. La evidencia generada no sólo aporta información clave sobre la contaminación de los embutidos secos, sino que también subraya la importancia de adoptar medidas preventivas, como la implementación de controles microbiológicos efectivos, campañas de sensibilización para consumidores y productores, y la mejora de las condiciones de producción y comercialización.

CONCLUSIONES

El estudio reveló la presencia de *Listeria monocytogenes* en el 15% de los embutidos secos analizados, lo que representa un riesgo significativo para la salud pública, especialmente en poblaciones vulnerables. Este hallazgo subraya la necesidad urgente de implementar medidas de control más estrictas.

Se aportó información relevante sobre *Listeria monocytogenes*, su asociación con la listeriosis y el impacto que tiene en los grupos vulnerables. Además, se destacó la importancia de los alimentos listos para el consumo, como los embutidos secos, como vehículos potenciales de este patógeno. Para mitigar estos riesgos, es fundamental adoptar prácticas higiénicas rigurosas y medidas preventivas a lo largo de toda la cadena de producción, manipulación y distribución.

Los resultados obtenidos mediante la Norma ISO 11290:2017 confirmaron la efectividad de este método en la detección de *Listeria monocytogenes*, aunque también evidencian que una proporción de los productos analizados no cumple con los estándares microbiológicos establecidos.

Finalmente, los hallazgos refuerzan la necesidad de implementar medidas de higiene más rigurosas en todas las etapas del proceso de producción y comercialización. Asimismo, se destaca la importancia de realizar monitoreos periódicos para asegurar la inocuidad de los productos y llevar a cabo campañas de sensibilización dirigidas a los consumidores, especialmente aquellos que pertenecen a grupos de alto riesgo.

BIBLIOGRAFÍA

- Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica. (2024). Ficha técnica N° 12: Listeriosis. Disponible en: https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/ficha_listeriosis2.pdf
- Agencia Catalana de Salud Pública. (2002). *Listeria monocytogenes*. Instituto Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo (INSST). Disponible en: <https://www.insst.es/agentes-biologicos-basebio/bacterias/listeria-monocytogenes>.
- Brusa, V., Prieto, M., Campos, C. A., Epszteyn, S., Cuesta, A., Renaud, V., Schembri, G., Vanzini, M., Michanie, S., Leotta, G., & Signorini, M. (2021). Quantitative risk assessment of listeriosis associated with fermented sausage and dry-cured pork shoulder consumption in Argentina. *Food Control*, 123, 107705. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107705>
- Código Alimentario Argentino. (2024). Capítulo VI: Alimentos cárneos y afines. Artículos 302 y 306. Disponible en <https://www.argentina.gob.ar/anmat/codigoalimentarioargentino>
- Doyle, M. P., Diez-Gonzalez, F., & Hill, C. (2019). *Food microbiology: Fundamentals and frontiers* (5.ª ed.). Wiley; ASM Press.
- FDA, USDA, & CDC. (2003). *Quantitative assessment of the relative risk to public health from foodborne Listeria monocytogenes among selected categories of ready-to-eat foods*.
- International Organization for Standardization. (2017). *Microbiology of the food chain - Horizontal method for the detection and enumeration of*

Listeria monocytogenes and *Listeria* spp. (ISO 11290:2017).

<https://www.iso.org>

- McLauchlin, J. (1997). The discovery of *Listeria*. *PHLS Microbiology Digest*, 14(2), 76–78.
- Organización Mundial de la Salud. (2018) Listeriosis. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/listeriosis>
- Parrilla Valero, Fernando, & Vaqué Rafart, Josep. (2014). Estudio de la incidencia de listeriosis en España. *Gaceta Sanitaria*, 28(1), 74-76. <https://dx.doi.org/10.1016/j.gaceta.2013.03.004>
- Pellicer, K., Copes, J., Malvestitti, L., Lanfranchi, M., Stanchi, N., Echeverría, G., & Noretto, E. (2002). Aislamiento e identificación de *Listeria monocytogenes* y *Listeria* spp. en embutidos secos obtenidos en mercado de la ciudad de La Plata, Argentina. *Revista Argentina de Microbiología*, 34, 219-221.
- Rey, A. M., & Silvestre, A. A. (2005). *Comer sin riesgos 2: Las enfermedades transmitidas por alimentos* (2.^a ed.). Hemisferio Sur.
- Ryser, E. T., & Marth, E. H. (2007). The genus *Listeria* and *Listeria monocytogenes*: Phylogenetic position, taxonomy, and identification. En E. T. Ryser & E. H. Marth (Eds.), *Listeria, listeriosis, and food safety* (3.^a ed., pp. 19–38). CRC Press.
- Schlech, W. F., III, Lavigne, P. M., Bortolussi, R. A., Allen, A. C., Haldane, E. V., Wort, A. J., Hightower, A. W., Johnson, S. E., King, S. H., Nicholls, E. S., & Broome, C. V. (1983). Epidemic listeriosis: Evidence for transmission by food. *The New England Journal of Medicine*, 308(4), 203–206.

- Rocourt, J., BenEmbarek, P., Toyofuku, H., & Schlundt, J. (2003). Quantitative risk assessment of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods: The FAO/WHO approach. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 35(3), 263–267.