



Prevalencia de Listeria monocytogenes en quesos frescos artesanales expandidos en mercados públicos de la ciudad de Riobamba, Ecuador

Prevalence of Listeria monocytogenes in fresh artisanal cheeses sold in public markets in the city of Riobamba, Ecuador

Prevalência de Listeria monocytogenes em queijos artesanais frescos vendidos em mercados públicos na cidade de Riobamba, Equador

Jesús Ramón López-Salazar ^I
jelopez@esPOCH.edu.ec
<https://orcid.org/0000-0002-2567-4146>

Cecilia Elizabeth Rodríguez-Haro ^{II}
crodriguez@uea.edu.ec
<https://orcid.org/0000-0001-8598-7702>

Verónica Gabriela López-Ullauri ^{III}
veronicag.lopez@esPOCH.edu.ec
<https://orcid.org/0000-0001-6505-5166>

Byron Leoncio Díaz-Monroy ^{IV}
byron.diaz@esPOCH.edu.ec
<https://orcid.org/0000-0003-3721-7994>

Correspondencia: jelopez@esPOCH.edu.ec

Ciencias de la Salud
Artículo de Investigación

***Recibido:** 02 de enero de 2022 ***Aceptado:** 22 de enero de 2022 * **Publicado:** 16 de febrero de 2022

- I. Msc. Producción Animal, Facultad de Ciencias Pecuaria, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH), Riobamba. Ecuador.
- II. Phd. Ciencias Veterinaria, Universidad Estatal Amazónica, Facultad Ciencias de la Vida, Puyo, Ecuador
- III. Facultad de Salud Pública, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH), Riobamba. Ecuador.
- IV. Facultad de Ciencias Pecuarias, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH), Riobamba. Ecuador.

Resumen

Introducción: La listeriosis es una enfermedad infecciosa bacteriana peligrosa para el ser humano y la salud pública a nivel mundial, es provocada por *Listeria monocytogenes* en el consumo de alimentos contaminados y su mala práctica de higiene. **Objetivo:** evidenciar la prevalencia de *L. monocytogenes* en quesos frescos mediante un muestreo aleatorio. **Metodología:** “Bacterial Analytical Manual”, la norma ISO 11290:2017 “Microbiology of the food chain-Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* and *Listeria* spp.” y el método de microbiología cuantitativa AOAC/IDF 993.12 para identificar *L. monocytogenes* en quesos. Durante el 2017 y 2018, para determinar la prevalencia de *L. monocytogenes* en quesos se analizaron 10 marcas mediante un muestreo aleatorio cada 30 días, con tres repeticiones específicamente en quesos frescos artesanales por su mayor riesgo en la incidencia de este microorganismo. **Resultados:** Los análisis microbiológicos de los quesos reportaron valores desde 56 hasta 20500 UFC/g de *L. monocytogenes*. Los resultados obtenidos lograron demostrar que la presencia de *L. monocytogenes* fue 100% de prevalencia en los quesos frescos artesanales analizados que se expenden en los mercados públicos de la localidad. Todas las marcas de quesos mostraron la presencia de *L. monocytogenes*, demostrando la ausencia de inocuidad en la elaboración a nivel de las queseras artesanales, transporte sin cadena de frío y la comercialización en los cuatro mercados públicos sin refrigeración. **Conclusiones:** La prevalencia de la *Listeria monocytogenes* en los quesos frescos analizados en este estudio, corroboran los factores de riesgo en la salud destacados de la listeriosis debido al consumo de alimentos frescos como productos lácteos, debido principalmente a sus características exclusivas que permiten el crecimiento de *L. Monocytogenes* en este tipo de alimentos.

Palabras Claves: Queso fresco artesanal; *Listeria Monocytogenes*; Mercados; Salud Pública.

Abstract

Introduction: Listeriosis is a dangerous bacterial infectious disease for humans and public health worldwide, it is caused by *Listeria monocytogenes* in the consumption of contaminated food and its poor hygiene practice. **Objective:** to demonstrate the prevalence of *L. monocytogenes* in fresh cheeses through random sampling. **Methodology:** "Bacterial Analytical Manual", the ISO 11290: 2017 standard "Microbiology of the food chain-Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* and *Listeria* spp." and the AOAC/IDF 993.12 quantitative

microbiology method to identify *L. monocytogenes* in cheese. During 2017 and 2018, to determine the prevalence of *L. monocytogenes* in cheese, 10 brands were analyzed by random sampling every 30 days, with three repetitions specifically in fresh artisan cheeses due to their higher risk in the incidence of this microorganism. **Results:** The microbiological analyzes of the cheeses reported values from 56 to 20,500 CFU/g of *L. monocytogenes*. The results obtained were able to demonstrate that the presence of *L. monocytogenes* was 100% prevalent in the analyzed artisanal fresh cheeses that are sold in the local public markets. All the cheese brands showed the presence of *L. monocytogenes*, demonstrating the absence of safety in the elaboration at the level of the artisanal cheese factories, transport without cold chain and commercialization in the four public markets without refrigeration. **Conclusions:** The prevalence of *Listeria monocytogenes* in the fresh cheeses analyzed in this study corroborates the prominent health risk factors for listeriosis due to the consumption of fresh foods such as dairy products, mainly due to its exclusive characteristics that allow the growth of *L. Monocytogenes* in this type of food.

Key words: Fresh artisan cheese; *Listeria monocytogenes*; markets; public health.

Resumo

Introdução: A listeriose é uma doença infecciosa bacteriana perigosa para o homem e para a saúde pública mundial, é causada pela *Listeria monocytogenes* no consumo de alimentos contaminados e sua má prática de higiene. **Objetivo:** demonstrar a prevalência de *L. monocytogenes* em queijos frescos por meio de amostragem aleatória. **Metodologia:** “Manual Analítico Bacteriana”, norma ISO 11290:2017 “Microbiologia da cadeia alimentar-Método horizontal para detecção e enumeração de *Listeria monocytogenes* e *Listeria spp.*” e o método microbiológico quantitativo AOAC/IDF 993.12 para identificar *L. monocytogenes* em queijo. Durante os anos de 2017 e 2018, para determinar a prevalência de *L. monocytogenes* em queijos, 10 marcas foram analisadas por amostragem aleatória a cada 30 dias, com três repetições especificamente em queijos artesanais frescos devido ao maior risco na incidência desse microrganismo. **Resultados:** As análises microbiológicas dos queijos relataram valores de 56 a 20.500 UFC/g de *L. monocytogenes*. Os resultados obtidos foram capazes de demonstrar que a presença de *L. monocytogenes* foi 100% prevalente nos queijos frescos artesanais analisados que são comercializados nos mercados públicos locais. Todas as marcas de queijos apresentaram a presença de *L. monocytogenes*, demonstrando a ausência de segurança na elaboração ao nível das

queijarias artesanais, transporte sem cadeia de frio e comercialização nos quatro mercados públicos sem refrigeração. **Conclusões:** A prevalência de *Listeria monocytogenes* nos queijos frescos analisados neste estudo corrobora os fatores de risco à saúde de destaque para listeriose devido ao consumo de alimentos frescos como laticínios, principalmente devido às suas características exclusivas que permitem o crescimento de *L. Monocytogenes* em este tipo de comida.

Palavras-chave: Queijo fresco artesanal; *Listeria monocytogenes*; mercados; Saúde pública.

Introducción

La listeriosis es una enfermedad originada por la bacteria *Listeria spp.*, forma parte de los agentes etiológicos de origen biológico causantes de las Enfermedades Transmitidas por Alimentos ETAs. Los reportes de la presente bacteria no han sido frecuentes en comparación con otras enfermedades transmitidas por alimentos (1, 2). Sin embargo, tiene un impacto social y económico ocasionado por la gravedad de su cuadro clínico en la salud (3, 4).

La especie *Listeria monocytogenes* en países desarrollados ha sido la causa más común de muerte por enfermedades transmitidas por alimentos (5, 6). *L. monocytogenes* se adhiere, invade y multiplica en diferentes células, tales como; epiteliales, endoteliales, hepáticas, fibroblastos o fagocitos, atraviesan el intestino, placenta y la pared hematoencefálica en humanos y animales (7). La listeriosis en los humanos fue reportada por primera vez en 1929 (8), su tasa de mortalidad es de 20-30 %. (9, 10, 11). La presencia de *L. monocytogenes* en quesos frescos blandos está relacionada con la leche contaminada sin pasteurizar. Asimismo, la contaminación puede darse post-procesamiento en las plantas de procesamiento de productos lácteos (12) o en algún momento de la cadena de comercialización. Se aisló a *L. monocytogenes* de muestras de sangre en pacientes diagnosticados con mononucleosis infecciosa (13). Es una bacteria psicotrópica, que crece y multiplica durante el almacenamiento en refrigeración, es resistente a temperaturas menores a 0°C y mayor a 50°C, a un pH mayor de 4,3 y a una salinidad del 12 % de cloruro sódico (14). Los brotes de listeriosis sucedidos pese a la pasteurización ponen en evidencia que el tratamiento térmico no elimina el riesgo de contaminación posterior y, por tal razón los alimentos pasteurizados conllevan el mismo peligro que la leche cruda.

En 1936, se reconoció por primera vez a *Listeria monocytogenes* como la causante de infección humana en el periodo perinatal y como responsable de meningitis en adultos. En 1940, fue

redescrita como *Listeria monocytogenes* (15, 16). Desde 1990, se ha reportado que el queso ha sido el alimento responsable en brotes de listeriosis (17, 18). En Estados Unidos, por el consumo de queso “tipo-mexicano”, que alcanzo con una tasa de mortalidad del 34% (19). En Suiza, se relacionó con el consumo de queso “Vacherin Mont d’Or-type”, llegó a una tasa de mortalidad del 27%. En Francia, fueron asociados al consumo de queso Brie de Meaux (20). En 2006, se confirmó un total de 1588 casos de listeriosis mediante pruebas de laboratorio en la Unión Europea (21), se han presentado otros brotes por lo que los organismos internacionales siguen considerando a este microorganismo de alto impacto en la salud pública, la mayor parte de los brotes de listeriosis en Europa han sido asociadas a los productos lácteos.

En Ecuador, hasta el momento no se han realizado estudios de carga e impacto en ninguna cadena alimentaria, lo cual es muy preocupante y altamente riesgoso (22). En el presente trabajo se trazó como objetivo evaluar el riesgo de infección por *Listeria monocytogenes* por consumo de quesos frescos artesanales comercializados en los mercados municipales de la ciudad de Riobamba.

Metodología

Se empleó un muestreo aleatorio con 90 muestras de quesos frescos empacados en fundas de polietileno de distintas marcas comercializadas en los mercados públicos de la ciudad Riobamba, obtenidos en diferentes días y horas, las condiciones de manejo y tipo conservación fueron similares. El método aplicado para identificar *Listeria monocytogenes* fue el “Bacterial Analytical Manual” BA y la norma ISO 11290: 2017 y el método AOAC/IDF 993.12 para productos lácteos (23). Las técnicas de estudio fueron el pre-enriquecimiento, enriquecimiento y posterior aislamiento en medios de cultivo delineados para la recuperar del microorganismo (Agar Palcam, agar Ottaviani-Agosti -Agar ALOA-, agar Oxford y agar MOX,)

Los métodos incluyen técnicas de aislamiento microbiológico y cuantificación mediante Unidades Formadoras de Colonias expresada por gramo (UFC/g), con una sensibilidad de detección de 1 célula/25 g del alimento analizado, equivalente a 0,04 UFC/g. Para el análisis de la sensibilidad se utilizó la técnica de (24) que optimiza el uso de medios de enriquecimiento, usualmente con la utilización de antibióticos que inhiben otros microorganismos competidores.

Tratamiento y Diseño Experimental

El número de unidades experimentales en el presente trabajo, fueron 90 muestras de quesos frescos artesanales; muestreados cada 30 días, transportados en cajas térmicas por un tiempo de una hora hasta el laboratorio para el análisis microbiológico utilizando el método de identificación de *Listeria monocytogenes* “Bacterial Analytical Manual” BAM, la norma ISO 11290: 2017 y el método AOAC/IDF 993.12 para productos lácteos. Se pesó un gramo de cada muestra de queso, en tres tubos de ensayo se añadió agua destilada, en uno de los tubos se agregó la muestra de queso previamente pesada, agitándole por tres minutos, posteriormente se realizaron las diluciones hasta 103, y de esta dilución, se colocó 1 ml. en las placas para determinar la presencia o ausencia de *L. monocytogenes*, incubando las placas a 37 °C por 24 horas, para proceder al conteo.

Análisis Estadísticos

Los resultados de los análisis de laboratorio de las muestras de quesos frescos artesanales fueron calculados con el Software Infostat 2019®, para determinar el nivel de contaminación con *Listeria monocytogenes* y la separación de medias al nivel de significancia de ($p > 0,05$)

Resultados

Las muestras de los quesos frescos artesanales fueron tomadas en cuatro mercados municipales de la ciudad de Riobamba, en base a la cantidad de quesos y distintas marcas que se comercializan a nivel de mesones de los lugares de expendio de este producto lácteo de los mercados: La Condamine, San Alfonso, Santa Rosa y Mayorista. Este estudio se focalizó principalmente en determinar la presencia o ausencia de *Listeria monocytogenes*, donde las 90 muestras fueron positivas para *L. monocytogenes*, evidenciando su presencia del 100 % en los quesos analizados. De acuerdo con los resultados de este trabajo de investigación a nivel de laboratorio, permitió comprobar la falta de inocuidad de los quesos frescos artesanales comercializados en cuatro mercados municipales del cantón Riobamba y el nivel de riesgo que representa este microorganismo para la salud de los consumidores. La presencia de microorganismos patógenos en alimentos es uno de los problemas de interés de la salud pública.

Los análisis microbiológicos que reportaron la presencia de *Listeria monocytogenes*, se observó las diferencias significativas entre los valores de la media de las muestras de quesos frescos artesanales analizadas a nivel de laboratorio (Tabla 1), evidenciando que todas las muestras de

quesos frescos de las 10 diferentes marcas resultaron contaminadas con este microorganismo patógeno, donde su cuantificación oscilaba desde 56,00 a 20500,00 UFC/g.

Tabla 1. Prevalencia de *Listeria monocytogenes* en quesos frescos artesanales comercializados en la ciudad de Riobamba, expresados en UFC/g

Quesos	Medias	N	E.E.		Prob.
QFSED	56,00	3	27686,66	A	0,0001
QFBS	206,67	3	27686,66	A	0,0001
QFSLJI	653,33	3	27686,66	A	0,0001
QFISR	1166,67	3	27686,66	A	0,0001
QFLV	1366,67	3	27686,66	A	0,0001
QFSJO	2373,33	3	27686,66	A	0,0001
QFADR	3283,33	3	27686,66	A	0,0001
QGFAM	10700,00	3	27686,66	A	0,0001
QFLCH	199333,33	3	27686,66	B	0,0001
QFSJA	205000,00	3	27686,66	B	0,0001

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Los valores más bajos de la prevalencia de *Listeria monocytogenes* se encuentran en las muestras de quesos frescos artesanales con los códigos QFSED y QFBS con valores de 56,00 UFC/g y 206,00 UFC/g respectivamente, mientras los quesos con los códigos QFLCH y QFSJA, presentaron los valores más altos con 199333,33 UFC/g y 205000,00 UFC/g respectivamente, valores que incumplen con la Norma NTE INEN 1528:202, lo que los convierte en alimentos no aptos para el consumo humano y de alto riesgo para desencadenar problemas de listeriosis en los consumidores.

Profundizando el análisis, los valores que sobrepasan al menos 10^4 (10000,00 UFC/g) en los quesos frescos artesanales de este estudio, fluctúan desde 10700,00 UFC/g; 199333,33 UFC/g y 205000,00 UFC/g, que representa el 30% de los quesos frescos comercializados a nivel de mercados municipales, cuya dosis infecciosa con bacterias viables capaces de colonizar el intestino, constituyen una amenaza potencialmente peligrosa para la población sana que adquiere y consume este tipo de quesos blandos.

Discusión

Con base a los resultados al presente estudio, las 10 marcas de quesos frescos analizados de los cuatro mercados municipales de la ciudad de Riobamba, se puede mencionar que la prevalencia de *Listeria monocytogenes* es alta y por lo tanto este tipo de quesos contaminados son potencialmente probables de causar enfermedades de transmisión alimentaria, esto se relaciona con otros estudios desarrollados en Ecuador, recientemente en el cantón Riobamba se investigó que los quesos frescos elaborados en queseras rurales determinaron la presencia de *L. monocytogenes* fue del 100% de los quesos analizados, con valores de 370,37 UFC/g, 555,56 UFC/g y 1940,74 UFC/g en diferentes queseras, estableciendo que los resultados son consecuencia del lugar con poco cuidado de inocuidad en su elaboración ⁽²⁵⁾. También, existe otro trabajo realizado en la ciudad de Guayaquil a nivel de supermercados, donde se analizaron quesos frescos comercializados a nivel de percha y en refrigeración, determinaron que el 55% de las muestras dieron positivo la presencia de *L. monocytogenes* ⁽²⁶⁾. Mientras que estudios realizados a nivel internacional, el queso fresco presentó una prevalencia para *L. monocytogenes* del 32% a 64% ⁽²⁷⁾.

En otras investigaciones, se conoce que la carga infecciosa de *Listeria monocytogenes* se podría iniciar con 10^2 bacterias viables (100,00 UFC/g) en el caso de los grupos de riesgo y esta cifra puede alcanzar hasta 10^4 (10000,00 UFC/g) en el caso de una población sana. Esta diferencia, en cuanto a los valores de *Listeria monocytogenes* evaluadas en 10 marcas de quesos frescos artesanales, con valores de 56,00 hasta 20500,00 UFC/g, permite conocer que el 99 % de estos quesos tienen un potencial riesgo para los consumidores del grupo de riesgo. La norma ecuatoriana NTE INEN 1528:2012, insta que los quesos frescos no madurados deben tener como índice máximo permisible una ausencia total del patógeno *Listeria monocytogenes* en 25 g en quesos frescos para definir un nivel bueno y de calidad admitida ⁽²⁸⁾, estas cuantificaciones se establecen por la normativa internacional ISO 11290-1.

La presencia de la *Listeria monocytogenes* en los alimentos causa listeriosis. Los brotes de listeriosis a menudo han sido vinculados al consumo de quesos frescos de estilo hispano (HSC), para el 17% del total de brotes en los Estados Unidos en los últimos diez años ⁽²⁹⁾. En virtud de las evidencias científicas, el queso fresco estilo hispano, es más común su consumo tanto en los Ecuador como en la población hispana de los Estados Unidos, que se caracteriza por un pH casi neutro, alto en grasa (>20 %) y baja sal (<3%) tienen una vida útil corta que requiere refrigeración,

destacándose que los quesos frescos son reconocidos por ser susceptibles para el crecimiento de *Listeria monocytogenes* ⁽³⁰⁾.

Conclusiones

1. De acuerdo con los resultados microbiológicos obtenidos del análisis de los quesos frescos artesanales, todas las marcas mostraron la presencia de *Listeria monocytogenes*, donde sus valores oscilan entre 56,00 hasta 20500,00 UFC/g demostrando la ausencia de inocuidad en la elaboración a nivel de las queseras artesanales, transporte sin cadena de frío y la comercialización en los cuatro mercados públicos sin mantener refrigeración.
2. El 100% de las muestras de quesos analizados incumplen con la Norma NTE INEN 1528:202 establecida para Ecuador. Por lo tanto, constituyen alimentos no aptos para el consumo y de alto riesgo para los consumidores, debido a que los quesos sobrepasan al menos 10^2 (1000 UFC/g). El 30 % de los quesos frescos comercializados sobrepasaron 10^4 (10000 UFC/g), con valores de 10700,00 UFC/g; 199333,33 UFC/g y 205000,00 UFC/g, lo que constituye un riesgo microbiológico para la población sana que consume este tipo de quesos frescos contaminados con *L. monocytogenes*.
3. El 99% de las marcas de quesos frescos artesanales expendidos en cuatro mercados públicos de la ciudad de Riobamba, tienen una potencial de dosis respuesta para los consumidores del grupo de riesgo, debido a que los quesos sobrepasan al menos 10^2 (1000UFC/g).
4. El 30 % de los quesos frescos comercializados sobrepasan al menos 10^4 (10000 UFC/g), con valores de 10700, 199333,33 y 205000 en UFC/g, constituyen una amenaza potencialmente peligrosa para la población sana que adquiere y consume este tipo de quesos frescos artesanales.
5. La prevalencia de la *Listeria monocytogenes* en los quesos frescos analizados en este estudio, corroboran los factores de riesgo en la salud destacados de la listeriosis debido al consumo de alimentos frescos como productos lácteos, debido principalmente a sus características exclusivas que permiten el crecimiento de *L. monocytogenes* en este tipo de alimentos.

Referencias

1. Van Stelten A, Nightingale K. Development and implementation of a multiplex single-nucleotide polymorphism genotyping assay for detection of virulence-attenuating mutations in the *Listeria monocytogenes* virulence-associated gene *inlA*. *Applied and Environmental Microbiology*. 2008;74(23):7365–7375.
2. Pan Y, Breidt Jr F, Kathariou S. Competition of *Listeria monocytogenes* serotype 1/2a and 4b strains in mixed-culture biofilms. *Applied and environmental microbiology*. 2009;75(18):5846–5852.
3. U.S. Food and Drug Administration. *Listeria monocytogenes*: Draft guidance. Sec. 555.320. Washington, D.C.: FDA; 2008. p. 7. Disponible en: <http://www.fda.gov/ICECI/ComplianceManuals/CompliancePolicyGuidanceManual/ucm136694.html>.
4. Medline Plus. Listeriosis: infecciones por *Listeria*. Biblioteca Nacional de Medicina de E.E.U.U. 2010. Fecha de consulta: 2 de marzo de 2014. Disponible en: <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/listeriainfections.html>
5. Swaminathan, B., and P. Gerner-Smidt. 2007. The epidemiology of human listeriosis. *Microbes Infect*. 9:1236–1243
6. Kim J.W, Siletzky R.M, Kathariou S. 2008. Hot ranges of *Listeria* –specific bacteriophages from the turkey processing plant environment in the United States. *Appl Environ Microbiol.*; 74:6623-6630.
7. Rahimi E, Momtaz H, Behzadnia A, Baghbadorani ZT. Incidence of *Listeria* species in bovine, ovine, caprine, camel and water buffalo milk using cultural method and the PCR assay. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*. 2014;4(1):50–3.
8. Nyfeldt, A. 1929. Etiologie de la mononucléose infectieuse. *C. R. Soc. Biol*. 101: 590.
9. Kagkli D.M, Iliopoulos V, Stergiou V, Lazaridou A, Nychas G.J. 2009. Differential *Listeria monocytogenes* strain survival and growth in katiti, a traditional Greek soft cheese, at different storage temperatures. *Appl Environ Microbiol.*; 75:3621-6.
10. Mammina C, Aleo A, Romani C, Pellissier N, Nicoletti P, Pecile P, et al. 2009. Characterization of *Listeria monocytogenes* isolates from human listeriosis cases in Italy. *J Clin Microbiol.*;47:2925-2930.

11. Kabuki, D.Y.; Kuaye, A.Y.; Wiedmann, M.; Boor, K.J. 2004. Molecular subtyping and tracking of *Listeria monocytogenes* in Latin-style fresh-cheese processing plants. *J. Dairy Sci.* 87, 2803-2812
12. Silva, I.M., Almeida, R.C.; Alves, M.A.; Almeida, P.F. 2004. Occurrence of *Listeria* spp. in critical control points and the environment of Minas Frescal cheese processing. *Int. J. Food Microbiol.* 81, 241-248
13. Gray ML, Killinger A. *Listeria monocytogenes* and listeric infections. *Bacteriological reviews.* 1966;30(2):309–82.
14. Posfay B. K. and Wald. E. R. 2009. Listeriosis. *Semin. Fetal Neonatal Med.* 14:228–233
15. Pirie, J.H.H. 1940. The genus *Listerella* Pirire. *Science (Washington)* 91: 383)
16. Burn CG. Characteristics of a new species of the genus *Listerella* obtained from human sources. *Journal of bacteriology.* 1935;30(6):573–591.
17. Bemrah N, Sanaa M, Cassin M, Griffiths M, Cerf O. Quantitative risk assessment of human listeriosis from consumption of soft cheese made from raw milk. *Preventive Veterinary Medicine.* 1998;37(1–4):129–145.
18. Todd E, Notermans S. 2010. Surveillance of listeriosis and its causative pathogen, *Listeria monocytogenes*. *Food Control.*
19. Posfay K, Wald E. Listeriosis. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2009 Aug;14(4):228-33. DOI 10.1016/j.siny.2009.01.006
20. Goulet V, Hedberg C, Le Monnier A, De Valk H. 2008. Increasing incidence of listeriosis in France and other European countries. *Emerg Infect Dis.*;14(5):734. doi 10.3201/eid1405.071395
21. Authority (EFSA) EFS. The community summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents, antimicrobial resistance and foodborne outbreaks in the European Union in 2006. *EFSA Journal.* 2007;5(12):130r.
22. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura- Organización Panamericana para la Salud (OPS/OMS). Análisis del Desempeño de los Organismos Nacionales Responsables de la Inocuidad de los Alimentos, Quito. Ecuador Junio 2006.
23. AOAC. *Listeria monocytogenes* in Milk and Dairy Products [Internet]. 2005. Report No.: 993.12. Disponible en: <http://www.eoma.aoac.org/methods/info.asp?ID=48309>

24. Nufer U, Stephan R, Tasara T. Growth characteristics of *Listeria monocytogenes*, *Listeria welshimeri* and *Listeria innocua* strains in broth cultures and a sliced bologna-type product at 4 and 7 °C. *Food Microbiol.* 2007;24(5):444-451.
25. Riera F. Influencia de Temperatura y Salinidad en el Crecimiento de *Listeria* y *Salmonella* en Quesos Frescos [Tesis de grado]. Riobamba: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2020 (101 p.). Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/14213/1/27T00440.pdf>
26. Plaza A, Morales M. Análisis Microbiológico en Quesos Frescos que se Expenden en Supermercados de la Ciudad de Guayaquil, Determinando la Presencia o Ausencia de *Listeria* y *Salmonella* [Tesis de grado]. Guayaquil: Escuela Superior Politécnica del Litoral; 2013 (241 p). Disponible en: <https://www.dspace.espol.edu.ec/retrieve/89758/D-79753.pdf>
27. Nielsen EM, Bjorkman JT, Kiil K, Grant K, Dallman T, Painset A, Amar C, Roussel S, Guillier L, Félix, B, Rotariou O, Perez-Reche F, Forbes K, Strachan N. Closing Gaps For Performing a Risk Assessment On *Listeria monocytogenes* in Ready-To-Eat (RTE) Foods: Activity 3, the Comparison of Isolates from Different Compartments Along the Food Chain, and from Humans Using Whole Genome Sequencing (WGS) Analysis. *EFSA Supporting Publications.* 2017; 14 (2): 1-170. <https://doi.org/10.2903/sp.efsa.2017.EN-1151>
28. Instituto Ecuatoriano de Normalización INEN. Norma Técnica Ecuatoriana NTE-INEN 1528-2012, Quesos Frescos No Madurados y Requisitos. Primera revisión 2012-03.
29. National Outbreak Reporting System (NORS) | CDC [Internet]. 2021 [cited 2021 Aug 30]. Disponible en: <https://www.cdc.gov/nors/index.html>
30. Ibarra-Sánchez L, El-Haddad N, Mahmoud D, Miller M, and Karam L. Invited Review: Advances in Nisin Use for Preservation of Dairy Products. *J. Dairy Sci.* 103:2041–2052. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17498>