

Enfermedades y alimentos contaminados.

Hinojosa-Juárez A.C

Investigadora del CEVECE.



<http://medicina-diaria.com/wp-content/uploads/2012/09/Imagen1.jpg>

Introducción

Muchos de los alimentos que consideramos frescos lo que verdaderamente están, es refrigerados, lo que propicia que los microorganismos mantengan bajo control su proliferación, en este mismo ambiente el crecimiento de otros microorganismos se facilitará a la misma temperatura, ya que encuentran el ambiente adecuado para ello. Nunca debemos olvidar que los alimentos tienen una gran cantidad de ellos, tienen los nutrientes, la humedad, temperatura, pH, adecuados para su desarrollo.

El Boletín Epidemiológico del Estado de México de la semana epidemiológica No. 52 del 22 al 28 de noviembre de 2013, informa que la segunda y tercera causa de morbilidad en el Estado de México, son las infecciones intestinales parasitarias y bacterianas con 692,679 y 627,772 casos anuales respectivamente, sólo después de las infecciones respiratorias agudas. **Figura 1.**

Evidentemente, las estadísticas de enfermedades transmitidas por alimentos no son confiables, los datos publicados sólo representan una parte del número verdadero de casos, sin embargo, aunque los sistemas nacionales de información en salud han mejorado substancialmente, aún no se puede precisar cuántas personas contraen infecciones alimentarias en una región específica, información necesaria para alcanzar mejor eficacia en los sistemas de prevención y control de estas enfermedades.



Figura No. 1. Primeras 12 causas de morbilidad en el Estado de México. Boletín Epidemiológico 52, 2013

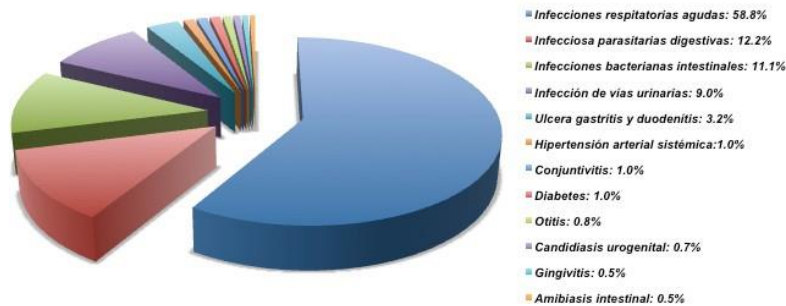


Figura 1. Boletín epidemiológico 52, 2013.

En el proceso de contaminación de los alimentos que consumimos día con día se encuentran esquematizadas las vías de contaminación: indirecta y directa que sin que comprendan todas las posibilidades se presentan en un resumen en la **Figura 2**.



Figura 2. La contaminación puede ser física: basura (vidrio, fragmentos de metal, astillas de madera, huesos y piedras, química y biológica), química (pesticidas, compuestos de limpieza, residuos de medicamentos, antibióticos, metales pesados, aditivos), biológica (bacterias, virus, protozoarios o parásitos).

Revisaremos algunos ambientes especiales como parte del proceso de transmisión de microorganismos patógenos, considerando que dependiendo del ambiente que rodea a los alimentos, se van a encontrar contaminantes en mayor o menor número.

Contaminación de alimentos por el aire que los rodea.

El menor número de microorganismos se encuentran en el aire debido a que no constituye un hábitat microbiano adecuado para el desarrollo de microorganismos, las células bacterianas existen en él, como resultado de la contaminación accidental, ya que las corrientes de aire pueden transportar microorganismos además de partículas, polvo y desechos de un lugar a otro y pueden transportar desde esporas de hongos, bacterias de excretas que se transportan sobre partículas de polvo o sobre residuos secos de gotitas de saliva, en donde se pueden transportar por ejemplo el *Micobacterium tuberculosis*. Es importante mencionar que la contaminación del aire es directamente proporcional al número de fuentes de contaminantes del mismo. Así, en ambientes cerrados con gran número de animales o personas los niveles de concentración bacteriana o viral puede ser altos. Mientras que en ambientes limpios es mucho menor.¹

Contaminación de alimentos por el agua

Una forma común de contaminación de alimentos es por el agua. El uso de aguas contaminadas para la limpieza y los procesos de elaboración y conservación de alimentos provocaría una contaminación irremediable en todos los productos elaborados. Los patógenos que llegan al agua provienen de la tierra, son liberados del excremento humano o de animal o de los cuerpos de animales o de humano que han fallecido por padecimientos infecciosos, mencionaremos algunos que llegan a contaminar los alimentos que se manejan con el agua contaminada: *Salmonella typhi*, *Vibrio cholerae*, *Shigella dysenteriae*, *Escherichia*, *Leptospira*, *Entamoeba histolytica*, *cisticercos de Taenia solium*, *virus de la hepatitis*, *poliomielitis*, entre otros. Es importante mencionar que un gran número de virus infectan al hombre y a los animales y son excretados al agua a través de las heces y la orina pudiendo causar otras enfermedades como meningitis, enfermedades respiratorias, diarreas, miocarditis, infecciones hepáticas, oculares.² **Figura 3.**

Figura 3. Principales virus patógenos excretados en heces y orina

Familia	Género	Principales especies	Enfermedades asociadas
Adenoviridae	Mastadenovirus	Adenovirus humanos	Infecciones oculares, respiratorias, urinarias, gastroenteritis
Polyomaviridae	Polyomavirus	JC	Leucoencefalopatía multifocal progresiva
Picomaviridae	Enterovirus	BK	Nefropatía asociada a poliomavirus
		Poliovirus	Infecciones del sistema nervioso, oculares y respiratorias, miocarditis, diarrea, anomalías congénitas de corazón
		Coxsackievirus A	
		Coxsackievirus B	
		Echovirus	
	Parechovirus	Enterovirus 68-71	
		Parechovirus humano	Gastroenteritis
	Hepatovirus	VHA	Hepatitis tipo A
Caliciviridae	Norovirus	Virus de Norwalk	Gastroenteritis
	Sappovirus	Virus de Sapporo	Gastroenteritis
Hepeviridae	Hepevirus	VHE	Hepatitis tipo E
Reoviridae	Rotavirus	Rotavirus grupos A y B	Gastroenteritis
Astroviridae	Astrovirus	Astrovirus humano	Gastroenteritis

Fuente: Rev. Esp. de salud pública 2005, Vol. 79, No. 2.

Contaminación de alimentos por el suelo

En el suelo, la vida sobre la tierra depende de las actividades metabólicas de los microorganismos del suelo. Existe de 10⁸ a 10¹⁰ bacterias por gramo de suelo. Actinomicetes su densidad varía entre 10⁵ y 10⁸ en suelos templados. El género más abundante es *Streptomyces*. Algas, en la superficie del suelo su número varía entre 100 y 50.000/g de suelo. Por debajo de la superficie no suelen encontrarse valores superiores a 10.000/g de suelo. La biomasa varía entre 7 y 300 kg/ha. En climas templados predominan clorófitas y diatomeas. Hongos. La población fúngica varía de 20.000 hasta 10⁸ propágulos fúngicos/gramo de suelo, considerando el propágulo como una espora, hifa o fragmento de hifa capaz de dar origen a una colonia sobre medio de cultivo. Teniendo en cuenta la longitud de las hifas (10,100 hasta 1000 m/g) y un peso estimado entre 500 y 5000 kg/ha de suelo. Los protozoarios normalmente varían entre 10.000 y 100.000/g de suelo, pero pueden llegar a cifras extremas de 300.000.³

Contaminación de los alimentos mismos

Si nos referimos a alimentos necesarios para mantener una dieta saludable comenzaremos por la carne y mencionaremos que en su interior la carne es estéril a menos que se obtenga de animales infectados, la superficie se contamina por bacterias del polvo, el agua, el suelo o las manos y excretas de las personas que la manejan inadecuadamente. En cuanto a la carne molida, en el proceso de molido se introducen los contaminantes de la superficie al interior en número tan elevado como 10 millones de bacterias por gramo.⁴

Los pescados y mariscos se contaminan durante su manejo pero también en su ambiente marino, los recogidos cerca de un drenaje de aguas negras pueden contener enterobacterias y virus.^{5,6}

En los huevos los microorganismos se incorporan merced a ovarios u oviductos infectados, las bacterias de la superficie provienen de suelo y de las heces de las aves con flora mixta, la cáscara es porosa y cuenta por dentro de una película protectora que protege al huevo, la principal función de esta película de mucina consiste en cerrar los poros, formando una barrera física contra la penetración de microorganismos, también evita la pérdida de agua y da un aspecto brillante al huevo al lavarse se remueve su capa protectora por lo que debe consumirse fresco.^{7,8}

En el pan, el horneado mata la mayoría de los gérmenes pero las esporas de microorganismos de los géneros *Bacillus* y *Clostridium*, así como la de hongos diversos persisten y pueden germinar para producir una nueva flora.⁹

La mayoría de las frutas contienen en su superficie considerable contaminación con organismos del suelo, además de las que

adquieren por la contaminación con polvo y con excretas de murciélagos frugívoros que transmiten entre otros microorganismos la *Leptospira*.⁹

Las verduras con hojas que contienen sobre la superficie sin lavar, una cuenta bacteriana puede ser tan alta como de 2x10⁶ microorganismos por gramo. En la superficie del jitomate sin lavar se han registrado cuentas de 5x10³ microorganismos por cm². En los jitomates lavados varían entre 4 y 7x10² microorganismos por cm².⁹

Con especial importancia hemos dejado al final las frutas y vegetales ya que durante los últimos años ha aumentado el consumo de vegetales frescos entre la población, ya sea por razones dietéticas o económicas, no sólo en nuestro país sino también en el resto del mundo. Concomitantemente, se registró un incremento en los casos de enfermedades transmitidas por alimentos (infecciones alimentarias e intoxicaciones) ya sea en forma de casos esporádicos o como brotes.⁹

En dichos procesos infecciosos se encuentran involucrados principalmente aquellos vegetales que se consumen preferentemente crudos en los cuales aún los procedimientos usuales de lavado no son capaces de reducir significativamente su carga microbiana.¹⁰

Entre los vegetales a partir de los cuales han sido aislados patógenos, se mencionan: alfalfa, brócoli, repollo, coliflor, lechuga, zanahoria, espinaca, setas, jitomates, pepinos, calabazas, etc., preferentemente cuando son consumidos en forma de ensaladas crudas.¹¹

La demanda de hortalizas frescas y listas para ser consumidas ha aumentado en nuestro país como en otros países del mundo y paralelamente se han incrementado los problemas de salud de los consumidores por la proliferación de microorganismos, debido a la posibilidad de contaminación de los vegetales que están expuestos al contacto con el agua contaminada, suelo o con el medio ambiente en general.¹²

A raíz del brote de 2011 de *E. coli* O 104 en Alemania y Francia por consumo de brotes germinados de alhova que afectó a miles de personas, la Comisión Europea pidió a la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria una evaluación del riesgo de toxiinfecciones alimentarias por el consumo de alimentos de origen vegetal. Lo que ha desarrollado un modelo de análisis con siete criterios: relación entre alimento y patógeno a partir de los datos de brotes de toxiinfecciones declarados en la Unión Europea, incidencia de las enfermedades, coste de las enfermedades, relación dosis-respuesta de cada patógeno, consumo, prevalencia de la contaminación y potencial de crecimiento del patógeno durante la vida útil de los productos vegetales. El resultado del modelo es una clasificación del riesgo por combinaciones de patógeno por producto que tiene cinco grupos ordenados de mayor a menor riesgo:¹³

1. *Salmonella spp.* y vegetales de hoja que se come cruda en ensaladas.
2. *Salmonella spp.* y vegetales de tallo y bulbo comestibles, *Salmonella spp.* y tomates, *Salmonella spp.* y melones, *E. coli* verotoxigénica y vegetales de vaina, legumbres y granos.
3. *Norovirus* y vegetales de hoja que se come cruda en ensaladas, *Salmonella spp.* en brotes de semillas germinadas, *Shigella spp.* y vegetales de vaina, legumbres y granos.
4. *Bacillus spp.* y especias y condimentos de hierbas secas, *norovirus* y vegetales de bulbo y tallo comestibles, *norovirus* y frambuesas, *Salmonella spp.* y frambuesas, *Salmonella spp.* y especias y condimentos de hierbas secas, *Salmonella spp.* y vegetales de hoja verde mezclado con otros alimentos de origen no animal, *Shigella spp.* y hierbas frescas (condimentos), *E. coli* verotoxigénica y brotes de semillas germinadas, *Yersinia*

spp. y zanahoria.

5. *Norovirus* y tomates, *norovirus* y zanahoria, *Salmonella spp.* y frutos secos y derivados, *Shigella spp.* y zanahoria.¹⁵

En nuestro país no existe un verdadero programa de vigilancia activa de las enfermedades transmitidas por alimentos en todo el territorio nacional, la información epidemiológica disponible mediante el Sistema de Información de Vigilancia epidemiológica de las Enfermedades Transmitidas por Alimentos es sólo un muestreo del verdadero problema y sólo refleja ciertos sucesos ocurridos en las localidades más populosas de nuestro Estado, sin considerar los cientos de brotes que se producen en localidades pequeñas y alejadas de las grandes ciudades.¹⁴

Uno de los principales problemas es que la contaminación bacteriana de las lechugas no se ve reducida significativamente con el lavado ordinario que aplican los consumidores, debido a la gran adherencia de los microorganismos a las estructuras del vegetal. Por ello es posible que los patógenos que se encuentran

en alta concentración en las hojas, se mantengan en altos inóculos al momento de la ingestión de las mismas.^{15,16,17,18,19}

Hasta la fecha se han descrito más de 250 enfermedades transmitidas por alimentos. La mayoría son infecciones ocasionadas por distintas bacterias, virus y parásitos. Constituyen un importante problema de salud pública debido al incremento en su ocurrencia, el surgimiento de nuevas formas de transmisión, la aparición de grupos poblacionales vulnerables, el aumento de la resistencia de los patógenos a los compuestos antimicrobianos y el impacto socioeconómico que ocasionan. La incidencia de estas enfermedades es un indicador directo de la calidad higiénico-sanitaria de los alimentos, y se ha demostrado que la contaminación de éstos puede ocurrir durante su procesamiento 2-4 o por el empleo de materia prima contaminada, pues algunas bacterias patógenas para el hombre forman parte de la flora normal de aves, cerdos y ganado²⁰. **Cuadro 1.**

Cuadro 1. Principales patógenos aislados de posibles productos portadores

Microorganismo	Trastorno que ocasiona	Posible producto portador	Método utilizado	Secuencia blanco
<i>Arcobacter spp.</i>	Diarrea, bacteremia	Carne de aves	ERIC-PCR, RAPD-PCR, PCR simple	Genes 16S y 23S.
<i>Bacillus cereus</i>	Diarrea, vómitos	Arroz, especias, productos lácteos y cárnicos	PCR simple	Gen <i>gyr B</i> (girasa), enterotoxinas y hemolisina.
<i>Campylobacter spp.</i>	Diarrea	Carne de aves, cerdo y res, leche cruda	PCR múltiple, PCR semi-anidado	Genes <i>hipO</i> , <i>glyA</i> y <i>sapB2</i> , <i>fla</i> .
<i>Clostridium botulinum</i>	Botulismo, vómitos	Pescado, miel, alimentos enlatados	PCR-ELISA, PCR simple	Regiones de los genes <i>bont</i> (codifican para las neurotoxinas botulínicas).
<i>Clostridium perfringens</i>	Diarrea, dolor abdominal	Carne de res y aves, salsas	PCR dúplex	Gen de la enterotoxina y de fosfolipasa.
<i>Escherichia coli</i>	Diarrea, colitis hemorrágica, síndrome hemolítico-urémico	Carne de res y productos lácteos	PCR múltiple, H-CM-PCR, PCR-TR, RT-PCR, QC-PCR	Genes de toxinas Shiga, shiga-like y verotoxigénica, <i>uidA</i> (β -glucuronidasa), factores de virulencia, genes del operón <i>rfb</i> .
<i>Listeria spp.</i>	Listeriosis	Paté, leche, queso suizo, carne, mariscos, ensalada de col	PCR múltiple, PCR - DGGE, RT-PCR, PCR simple, PCR-TR	Detección de factores de virulencia (gen <i>iap</i> , <i>hly</i> , <i>inlB</i> , <i>plcA</i> , etc.) o de proteínas de enlace (gen <i>fbp</i>).
<i>Salmonella spp.</i>	Gastroenteritis	Carne de res y aves, leche, huevos crudos	PCR simple	genes 16S y 23S, genes que codifican para las fimbrias, gen <i>virA</i> .
<i>Shigella spp.</i>	Disenteria bacilar, fiebre, calambres	Mayonesa, vegetales crudos, leche, aves, productos lácteos	PCR combinado con hibridación de ADN, PCR simple	
<i>Staphylococcus aureus</i>	Intoxicación estafilocócica	Leche cruda	PCR múltiple-ELISA, PCR múltiple	Genes que codifican para toxinas pirogénicas.
<i>Vibrio cholerae</i>	Cólera	Ostras crudas, pescado	PCR-TR	Secuencia de hemolisina no clásica (<i>hlyA</i>), proteínas de membrana (<i>OmpW</i>).
<i>Yersinia enterocolitica</i>	<i>Yersiniosis</i>	Leche o agua contaminada, tofu, canales de cerdo	PCR-TR	Regiones del gen de invasión <i>ail</i> .

Abreviaturas:

ERIC = Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus

PCR-TR = PCR en tiempo real

RAPD = Random Amplified Polymorphic DNA

H-CM-PCR = Hibridación-captura magnética-PCR

QC-PCR = PCR competitivo cuantitativo

RT-PCR = PCR transcriptasa reversa

DGGE = Denaturing Gradient Gel Electrophoresis



Como consecuencia de los cambios en el sistema de vida y en los hábitos alimentarios, las enfermedades causadas por el consumo de alimentos contaminados han surgido como una causa importante de morbilidad a nivel mundial. Han sido descritos alrededor de 250 agentes causantes de enfermedades transmitidas por alimentos, entre los que se incluyen bacterias, virus, hongos, parásitos, priones, toxinas y metales pesados.^{22,23,24}

La población general desconoce que frente a la ocurrencia de un brote de gastroenteritis a nivel familiar o institucional (guarderías, colegios, empresas, industrias) la notificación a los sistemas de vigilancia puede ser de beneficio al generar asesoría técnica que favorezca el control y prevención de nuevos brotes. La gran mayoría de las personas no busca atención médica y no denuncia un brote, aun sabiendo que hay un grupo de personas afectadas, cuando la sintomatología no es severa.²⁵

Por su parte los profesionales de los Servicios de Salud, especialmente en los Servicios de Urgencia no se sienten motivados a efectuar la notificación, restándole prioridad dentro de sus tareas asistenciales. Las diferencias observadas en la notificación de brotes entre los diferentes Servicios de Salud pensamos que obedecen más bien a diferencias en la rigurosidad de efectuar la notificación, ya que no encontramos justificaciones epidemiológicas. Las falencias en la oportunidad con que se notifican los brotes dificulta realizar el estudio etiológico, ya que en muchas ocasiones la notificación es tardía y no es posible recolectar muestras de alimentos o de los pacientes. Se deben duplicar los esfuerzos para mejorar esta situación con el fin de tener un diagnóstico más realista de la situación.²⁶

Además de los agentes biológicos, los productos químicos aparecen como causa importante de toxi-infecciones alimentarias, lo que hace recomendable revisar las regulaciones vigentes sobre aditivos y colorantes que se utilizan en los alimentos en el país.

Un aspecto que deseamos recalcar es la importancia de la adecuada manipulación de alimentos a nivel del hogar, donde se produce un número significativo de los brotes y es necesario reactivar campañas de educación a través de medios de comunicación masivos como se hizo en el pasado para el control del cólera, enfatizando los procedimientos adecuados para evitar la contaminación cruzada y la aplicación de las normas de higiene básicas en la cocina.

De los alimentos que ingresan al hogar, hay algunos que presentan mayor riesgo de producir enfermedades gastrointestinales como es el queso de fabricación artesanal que se vende en la vía pública, en tianguis y mercados libres sin haber sido sometido a pasteurización, el cual es vehículo de *Salmonella*, *Shigella* y *S. aureus*. Del mismo modo los huevos pueden estar contaminados con *Salmonella*, por lo cual deben ser consumidos cocidos y desechar la práctica de consumir mayonesa de preparación casera, merengue y otros preparados con huevo crudo. Ha sido demostrado que la carne de vacuno o cerdo puede estar potencialmente contaminada con *E. coli*, enterohemorrágico; de especial riesgo puede resultar la carne molida que generalmente es el resultado de la mezcla de diferentes trozos de carne y este producto puede causar infecciones serias si se consume insuficientemente cocida, pero además puede contaminar superficies, utensilios y otros alimentos si se almacena en forma inadecuada en el refrigerador.^{27,28}

Las enfermedades transmitidas por los alimentos se producen por la ingestión de alimentos y/o bebidas contaminados con microorganismos patógenos que afectan la salud del consumidor en forma individual o colectiva. Sus síntomas más comunes son diarreas y vómitos, pero también se pueden presentar otros como choque séptico, hepatitis, cefaleas, fiebre, visión doble, es posible que una infección con la cepa O157:H7 de *E. coli* provoque el síndrome hemolítico urémico con secuelas de insuficiencia renal crónica etcétera.^{29,30,31}

La detección y la investigación de los brotes de enfermedades infecciosas, constituye uno de los principales retos para el Sistema de Salud Pública, pues requiere obtener, de manera oportuna y eficaz, información médica (datos personales, síntomas, etc.) y análisis de laboratorio de los restos de alimentos o de las materias primas empleadas en su elaboración e, incluso, de las manos de las personas involucradas en la manipulación del alimento.³²

Tradicionalmente, las infecciones se diagnostican mediante el cultivo de muestras de alimentos que se suponen contaminados y la identificación de las bacterias que crecen en los medios de cultivo, con base en criterios morfológicos y fisiológicos que quizá dependan de factores ambientales o genéticos.³³

Un alto porcentaje de los casos de infecciones alimentarias no puede asociarse con algún alimento en particular o no es factible identificar al patógeno responsable, debido, fundamentalmente, a que los resultados de los análisis bacteriológicos son tardados; lo que sugiere la necesidad de establecer métodos rápidos y eficientes de detección del agente causal. Uno de ellos es la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), que consiste en la amplificación selectiva de una secuencia blanco flanqueada por secuencias cortas de polinucleótidos (usualmente de entre 10 y 30 nucleótidos) llamadas iniciadores o cebadores.³⁴

La detección y la identificación de los patógenos implicados en las enfermedades alimentarias es una parte fundamental de la vigilancia epidemiológica, prevenir las enfermedades que producen.³⁵

La detección y la prevención de enfermedades transmitidas por alimentos depende del esfuerzo conjunto de las autoridades normativas, sanitarias, industriales y educativas, cuyas investigaciones objetivas y detalladas conlleven a una disminución en los riesgos de contaminación de los alimentos. El desarrollo y la automatización de los métodos de PCR abren una gran oportunidad para su aplicación como herramientas analíticas en microbiológico y control de calidad de los alimentos, debido a su rapidez, alta sensibilidad y eficiencia para la detección temprana de los patógenos. De ese modo, contribuirán notablemente a la prevención tanto de ETA como de sus consecuencias.^{36,37}

Regresando al primer comentario, si sumamos el porcentaje anual de infecciones parasitarias y bacterianas que nos proporciona el Boletín Epidemiológico del Estado de México, encontramos que éstas dos causas de infecciones intestinales, superan con mucho a las nueve causas de morbilidad que les siguen en porcentaje, motivo por el cual es sumamente necesario considerar que la higiene y la adecuada manipulación de los alimentos, desde que se producen hasta que se consumen, incide directamente sobre la salud de nuestra población.

Referencias bibliográficas

1. Martinko, J. y Parker, J. (2003). Brock Biología de los Microorganismos. 10ª edición. Prentice-Hall.
2. Altekruze SF, Cohen ML, Swerdlow DL. Emerging Foodborne Diseases. *Emerg Infect Dis* 1997; 3: 285-293.
3. Alexander, M. Introducción a la microbiología del suelo. México. AGT Editor. 1980. Pp. 491.
4. Manual práctico de Microbiología. 2ª edición. Masson, S.A., Barcelona. Godoy, P. et al. (2011)
5. Hielm S, Björkroth J, Hyytiä E, Korkeala H. Prevalence of *Clostridium botulinum* in finnish trout farms: Pulsed-field gel electrophoresis typing reveals extensive genetic diversity among type E isolates. *Appl Environ Microbiol* 1998;64:4161-4167.
6. Hyytiä E, Hielm S, Björkroth J, Korkeala H. Biodiversity of *Clostridium botulinum* type E strains isolated from fish and fishery products. *Appl Environ Microbiol* 1999;65:2057-2064.
7. Lennette, E. (1992) Manual de Microbiología Clínica. 4ª Ed. Panamericana. Buenos Aires. M., Martinko, J. y Parker, J. (2003) Brock Biología de los Microorganismos. 10ª edición. Prentice-Hall.
8. Prescott, L. M., Harley, J. P., y Klein, D. A. (1999) Microbiología. 4ª Ed. McGraw-Hill Interamericana.
9. Organización Mundial de la Salud: Nuestro planeta, nuestra salud: informe de la Comisión de la OMS sobre Salud y Medio Ambiente. Ginebra. 1992.



Inteligencia Epidemiológica 2013;129-34.

10. Takeuchi K, Frank JF: Penetration of *Escherichia coli* O157:H7 into lettuce tissues as affected by inoculum size and temperature and the effect of chlorine treatment on cell viability. *J Food Prot* 2000; 63: 434-440.
11. Díaz Sobac R, Vernon Carter J: Inocuidad microbiológica de frutas frescas y mínimamente procesadas. *Cienc Tecnol Aliment* 1999; 2: 133-136.
12. Ackers ML, Mahon BE, Leahy E, et al: An outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections associated with leaf lettuce consumption. *J Infect Dis* 1998; 177:1588-1593.
13. Comité Científico Asesor de Seguridad Alimentaria En: www.gencat.cat > ... > Notas de actualidad > Notas de actualidad 2013
14. Frost JA, McEvoy MB, Bentley CA, et al: An outbreak of *Shigella sonnei* infection associated with consumption of iceberg lettuce. *Emerg Infect Dis* 1995; 1(1): 26-28.
15. Hilborn ED, Mermin JH, Mshar PA, et al: A multistate outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections associated with consumption of Mesclun lettuce. *Arch Intern Med* 1999; 159:1758-1764.
16. Kapperud G, Rørvik LM, Hasseltvedt V, et al: Outbreak of *Shigella sonnei* infection traced to imported iceberg lettuce. *J Clin Microbiol* 1995; 33(3): 609-614.
17. Roseblum LS, Mirkin IR, Allen DT, et al: A multifocal outbreak of Hepatitis A traced to commercially distributed lettuce. *Am J Public Health* 1990; 80:1075-1079.
18. Food and Drug Administration: Potential for infiltration, survival and growth of human pathogens within fruits and vegetables. Center for Food Safety and Applied Nutrition. 1999.
19. Beuchat LR: Survival of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in bovine feces applied to lettuce and the effectiveness of chlorinated water as a disinfectant. *J Food Prot* 1999; 62: 845-849.
20. Mead P, Slutsker L, Dietz V, McCaig LF, Bressee JS, Shapiro C, et al. Food-related illness and death in the United States. *Emerg Infect Dis* 1999; 5: 607-25.
21. Autio T, Hielm S, Miettinen M, Jöberg A-M, Aarnisalo K, Björkroth J, et al. Sources of *Listeria monocytogenes* contamination in a cold-smoked rainbow trout processing plant detected by pulsed-field gel electrophoresis typing. *Appl Environ Microbiol* 1999;65:150-155.
22. Archer DL, Kvenberg JE. Incidence and cost of foodborne diarrheal diseases in the United States. *J Food Protect* 1985; 48: 887-94.
23. Todd ECD. Preliminary estimates of costs of foodborne disease in the United States. *J Food Protect* 1989; 52: 595-601.
24. Bhagwat A. Rapid detection of *Salmonella* from vegetable rinse-water using real-time PCR. *Food Microbiol* 2004;21:73-78.
25. Kotloff K. Bacterial Diarrheal Pathogens. *Advances in Pediatrics Infectious Diseases*. 1999; 14: 219-67.
26. Prado V, O'Ryan M. Acute Gastroenteritis in Latin America. *Infect Dis Clin of North America* 1994; 8: 77-106.
27. Samadpour M, Ongerth J, Liston J, Tran N, Nguyen D, Whittam T, et al. Occurrence of Shiga-Like-Toxin producing *Escherichia coli* in retail fresh seafood, beef, lamb, pork, and poultry from grocery stores in Seattle, Washington. *Appl Environ Microbiol* 1994; 60: 1038-40.
28. Alexandre M, Prado V, Ulloa MT, Arellano C, Ríos M. Detection of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* in meat foods using DNA probes, enzyme-linked immunosorbent assay and polymerase chain reaction. *J Vet Med B*2001; 48: 321-30.
29. Normanno G, Dambrosio P, Quaglia N, Montagna D, Chiocco D, Celano G. Typing of *Escherichia coli* O157 strains isolated from fresh sausage. *Food Microbiol* 2004;21:79-82.
30. Wang G, Clark C, Rodgers F. Detection in *Escherichia coli* of the genes encoding the major virulence factors, the genes defining the O157:H7 serotype, and components of the type 2 Shiga toxin family by multiplex PCR. *J Clin Microbiol* 2002;40:3613-3619.
31. O'Ryan M, Vial P, Mamani N, Jiang X, Estes MK, Ferreccio C, et al. Seroprevalence of Norwalk virus and México virus in Chilean individuals: assessment of independent risk factors for antibody acquisition. *Clin Infect Dis* 1998; 27: 789-95.
32. Rosas GA, Acosta VM. Manual de manejo higiénico de los alimentos. Mexico, D.F.: Secretaría de Salud, 2001.
33. Scheu P, Berghof K, Stahl U. Detection of pathogenic and spoilage micro-organisms in food with the polymerase chain reaction. *Food Microbiol* 1998;15:13-31.
34. Coetsier C, Vannuffel P, Blondeel N, Deneef J, Cocito C, Gala J. Duplex PCR for differential identification of *Mycobacterium bovis*, *M. avium*, and *M. avium* subsp. *paratuberculosis* in formalin-fixed paraffin-embedded tissues from cattle. *J Clin Microbiol* 2000;38:3048-3054.
35. Gentry-Weeks C, Hutcheson H, Kim L, Bolte D, Traub-Dargatzis J, Morley P, et al. Identification of two phylogenetically related organisms from feces by PCR for detection of *Salmonella* spp. *J Clin Microbiol* 2002;40:1487-1492.
36. Millemann Y, Gaubert S, Remy D, Colmin C. Evaluation of IS200-PCR and comparison with other molecular markers to trace *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serotype yphimurium bovine isolates from farm meat. *J Clin Microbiol* 2000;38:2204-2209.
37. Limpieza y desinfección. Calidad microbiológica del ambiente En: www.ucv.ve/fileadmin/user_upload/.../10_Limpieza__y_control.pdf