

UNIVERSIDAD INTERNACIONAL SEK

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

Trabajo de Fin de Máster Titulado:

Identificación de genes de resistencia y factores de virulencia en *Listeria spp.* de origen alimentario, a partir de datos producidos por NGS.

Realizado por:

CHIRIBOGA CORDONES JUAN FERNANDO

Director del proyecto:

Ing. Andrés Herrera, MSc.

Como requisito para la obtención del título de:

MAGISTER EN BIOMEDICINA

Quito, 12 de Marzo del 2025

DECLARACIÓN JURAMENTADA

Yo, CHIRIBOGA CORDONES JUAN FERNANDO, ecuatoriano, con cédula de ciudadanía 180438765-0, declaro bajo juramento que el trabajo aquí desarrollado es de mi autoría, que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que se basa en las referencias bibliográficas descritas en este documento.

A través de la presente declaración, cedo los derechos de propiedad intelectual a la UNIVERSIDAD INTERNACIONAL SEK, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, reglamento y normativa institucional vigente

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Juan Fernando Cordones Chiriboga', written over a horizontal line.

Chiriboga Cordones Juan Fernando
C.I. 1804387650

DECLARACIÓN DEL DIRECTOR DE TESIS

Declaro haber dirigido este trabajo a través de reuniones periódicas con el estudiante, orientando sus conocimientos y competencias para un eficiente desarrollo del tema escogido y dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación.

Manuel Andrés Herrera Yela
MSc. En Biología Computacional

LOS PROFESORES INFORMANTES

Los Profesores Informantes:

Jaime David Acosta España

Jorge Patricio Espinosa Espinosa

Después de revisar el trabajo presentado, lo han calificado como apto para su defensa oral ante el tribunal examinador.

PhD. Jorge Patricio Espinosa Espinosa

Dr. Jaime David Acosta España

Quito, 12 de Marzo del 2025

DECLARACIÓN DE AUTORÍA DEL ESTUDIANTE

Declaro que este trabajo es original, de mi autoría, que se han citado las fuentes correspondientes y que en su ejecución se respetaron las disposiciones legales que protegen los derechos de autor vigentes.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Juan Fernando', written in a cursive style.

Chiriboga Cordones Juan Fernando
C.I. 1804387650

Artículo de tesis

Identificación de genes de resistencia y factores de virulencia en *Listeria spp.* de origen alimentario, a partir de datos producidos por NGS.

Juan Chiriboga ¹, Andrés Herrera (Tutor)¹

¹ Maestría en Biomedicina, Facultad de Ciencias de la Salud, UISEK; juan.chiriboga@uisek.edu.ec

Antecedentes: *Listeria monocytogenes* es un patógeno alimentario causante de Listeriosis, provoca una mayor mortalidad en grupos vulnerables como ancianos, personas embarazadas o inmunodeprimidas. Aparece de forma no invasiva cuando causa una gastroenteritis aguda, pero si aparece de forma invasiva provoca meningitis afectando al sistema nervioso o listeriosis materno-fetal, causando un aborto espontáneo. Los diferentes grados de patogenicidad ocurren por la presencia de factores de virulencia en locaciones cromosómicas como: LIPI-1 o LIPI3. El objetivo de esta investigación es caracterizar genes de resistencia y factores de virulencia del Género *Listeria spp.* a partir de datos producidos por Secuenciación de Genoma Completo (WGS) mediante herramientas bioinformáticas para la comprensión de riesgos enfocados a la contaminación alimentaria y su transmisión. **Métodos:** las lecturas crudas se obtuvieron en la plataforma NCBI en la sección SRA, mediante la plataforma Galaxy Australia se realizó un ensamblaje genómico con: SPAdes, Quast, FASTQc, Trimmomatic; para la detección del resistoma bacteriano se utilizó ABRicate y para la genotipificación se utilizó MLST. **Resultados:** Se identificó a 2 muestras de *L. innocua* y 66 muestras de *L. monocytogenes*, donde el Linaje I está relacionado con infecciones humanas como listeriosis y un Linaje II con la contaminación en entornos alimentarios. El linaje I presentó clones hipervirulentos como CC1, CC6 y CC217 por la presencia de Listeriolisina S (LLS), CC2 y CC87 presentaban genes de LIPI-1 e internalinas. El linaje II tuvo al CC121 que presentaba genes de resistencia como lsa(E) y lnu(B), el CC19 presentó el gen tet(M). **Conclusión:** se identificó la expresión de ciertos factores hipervirulentos en clones específicos por lo cual esto permite conocer los diferentes grados de virulencia que puede tener una misma especie bacteriana, siendo esto relevante para la vigilancia epidemiológica para identificar cepas de alto riesgo y la mejora de la seguridad alimentaria.

Palabras clave: *Listeria monocytogenes*; Next Generation Sequencing (NGS), Resistencia antimicrobiana (RAM,) Factores de virulencia, Listeriosis

Abstract: *Listeria monocytogenes* is a foodborne pathogen that causes Listeriosis, leading to higher mortality in vulnerable groups such as the elderly, pregnant people or immunosuppressed. It appears non-invasive form when it causes acute gastroenteritis, but if it appears invasively it causes meningitis affecting the nervous system or maternal-fetal listeriosis, causing spontaneous abortion. The different degrees of pathogenicity occur due to the presence of virulence factors in chromosomal locations such as: LIPI-1 or LIPI3. The objective of this study is to characterize resistance genes and virulence factors of *Listeria spp.* genus from data produced by Whole Genome Sequencing (WGS) using bioinformatics tools for understanding risks focused on food contamination and its transmission. **Methods:** Raw reads were obtained from the NCBI platform in the SRA section, using the Galaxy Australia platform a genomic assembly was performed with: SPAdes, Quast, FASTQc, Trimmomatic; ABRicate was used to detect the bacterial resistome and MLST was used for genotyping. **Results:** Two samples of *L. innocua* and 66 samples of *L. monocytogenes* were identified, where Lineage I is related to human infections such as listeriosis and Lineage II to contamination in food environments. Lineage I presented hypervirulent clones such as CC1, CC6 and CC217 due to the presence of Listeriolysin S (LLS), CC2 and CC87 presented LIPI-1 and internalin genes. Lineage II contained CC121 which presented resistance genes such as lsa(E) and lnu(B), CC19 presented the tet(M) gene. **Conclusion:** The expression of certain hypervirulent factors was identified in specific clones, revealing the different degrees of virulence in the same bacterial species, which is relevant for epidemiological surveillance to identify high-risk strains and improve food safety.

Keywords: *Listeria monocytogenes*; Next Generation Sequencing (NGS), Antimicrobial Resistance (RAM,) Virulence Factors, Listeriosis

1. Introducción

Las Enfermedades Transmitidas por alimentos (ETAS) representan una gran problemática con respecto a la salud de las personas, debido al consumo de alimentos contaminados con agentes químicos, físicos y biológicos (bacterias, hongos o virus) (Fernández et al., 2021). Afectan a 1 de cada 10 personas anualmente, reportando 600 millones de casos de personas enfermas y alrededor de 420.000 muertes, siendo igual un gran problema económico por el considerable tratamiento con antibióticos y su posible resistencia microbiana (Havelaar et al., 2015). Las bacterias relacionadas con alimentos contaminados que presentan una mayor cantidad de reportes anualmente son: *Salmonella spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* y *Clostridium spp.*, de igual manera se reporta una gran cantidad de virus como: norovirus y rotavirus (Cortés-Sánchez et al., 2018).

En el Ecuador mediante el Sistema Integrado de Vigilancia Epidemiológica (SIVE) perteneciente al Ministerio de Salud Pública (MSP) se reportan casos netos de ETAS de manera constante en gacetas. Destacando patologías causados por patógenos alimentarios, como: Hepatitis A, Salmonelosis, Fiebre Tifoidea y otras intoxicaciones alimentarias. La primera gaceta publicada del año 2025 indica un gran número de casos relacionados con las ETAS en el país, con un total de 16 reportes de Hepatitis A, 110 de intoxicaciones alimentarias, 12 de fiebre tifoidea y paratifoidea, 4 de Shigelosis y 8 de Salmonella, siendo una gran problemática por el consumo de alimentos contaminados y relacionados a la inocuidad alimentaria e higiene personal (MSP, 2025).

El Género *Listeria spp.* se encuentra presente en el medio ambiente, donde sus especies generan un impacto zoonótico y patogénico, actualmente presenta un número de 22 especies, pero existen 7 especies clásicas representativas que son: *L. seeligeri*, *L. wlshimeri*, *L. innocua*, *L. marthii*, *L. ivanovii* y *L. monocytogenes*; donde, se conoce que *L. ivanovii* afecta a animales y *L. monocytogenes* tanto a animales como humanos, siendo las dos únicas especies patogénicas (Orsi et al., 2024). Por otro lado, *L. innocua* se ha reportado en personas inmunodepresivas pero no es considerada patógena por la falta de producción de factores de virulencia, no afecta a los humanos ni a los animales, suele identificarse en lugares de procesamiento de alimentos o en entornos ambientales. Suele ser muy similar a *L. monocytogenes* pero no presenta ciertos genes de virulencia que permiten el traspaso a través de las células epiteliales como son: internalina A y B (inlA, inlB) (Matto et al., 2022). Por otro lado, *L. monocytogenes* es de origen zoonótico, siendo colonizadora del tracto gastrointestinal en animales, especialmente de granja, siendo un factor de diseminación a través de la cadena alimentaria, como el consumo de leche no pasteurizada, carne o alimentos procesados (Schoder et al., 2022). El primer reporte de esta especie fue en el año 1926 por el diagnóstico de un conejo con afecciones sistémicas, que presentaban lesiones en los tejidos de sus órganos; posteriormente, se identificó la capacidad de infectar a humanos mediante el consumo de alimentos contaminados, siendo un patógeno zoonótico relevante y el primer caso en humanos reportado fue en el año de 1980 (Sarr et al., 2023).

L. monocytogenes es una bacteria gram positiva, anaerobia facultativa con un diámetro de 0.5 a 2 μm , puede tolerar altos niveles de salinidad como un pH de 4.6 a 9.5. Puede sobrevivir a niveles bajos de temperatura (-4°C) y su temperatura óptima de crecimiento es 37°C (Osek & Wiczorek, 2023). La listeriosis se presenta de una forma no invasiva como invasiva, esta primera se reporta como una gastroenteritis leve y provoca síntomas como: fiebre, vómito, diarrea y dolor abdominal. Por otro lado, la listeriosis invasiva ocurre cuando la bacteria atraviesa la barrera intestinal y provoca 3 manifestaciones clínicas: bacteriemia, ocurre cuando la bacteria ingresa al torrente sanguíneo produciendo un malestar general, escalofríos y fiebre alta; meningitis y encefalitis, ocurre cuando la bacteria traspasa la barrera hematoencefálica y afecta al Sistema nervioso central, afectando principalmente a personas inmunodeprimidas; listeriosis materno-fetal, cuando la bacteria traspasa la placenta provocando aborto espontáneo y muerte fetal (Bongiovanni et al., 2024; Wang et al., 2021). La identificación de *L. monocytogenes* de manera general se realiza con pruebas microbiológicas tradicionales y moleculares como PCR, que comprenden ciertas limitaciones al momento de identificar linajes o complejos clonales. Así, las pruebas microbiológicas requieren de medios de cultivo diferenciales, donde puede existir confusión entre distintas especies por su alta similitud y se utiliza solamente para detección e identificación de esta especie (Muñoz & Rodríguez, 2021). Con los métodos moleculares existe una limitación, donde deben ser realizadas por personas con experticia y los reactivos pueden resultar costosos, pero gracias a los avances en tecnología han aparecido técnicas que reducen estas limitaciones, como ensayos mediante MALDI-TOF MS, LAMP y Ensayos inmunológicos como aglutinación o inmunoprecipitación, utilizadas para el control microbiológico en alimentos (Logue & Nde, 2017).

La Secuenciación de Próxima Generación (NGS) abarca una gran variedad de tecnologías que secuencian una gran cantidad de secuencias de forma masiva y paralela, siendo su principal función la identificación de variantes genéticas relacionadas a enfermedades, de esta manera se puede plantear un diagnóstico, seguimiento y tratamiento (Satam et al., 2023). Entre las tecnologías que más se utilizan actualmente son Illumina e Ion Torrent, la primera utiliza una PCR en puente donde se unen fragmentos de ADN con oligonucleótidos complementarios y se posicionan en las celdas de flujo, su detección se basa mediante fluorescencia. Por otro lado, Ion Torrent utiliza el método de PCR de emulsión y la detección se realiza mediante un ión semiconductor (Hagar & Hassan Hagar, 2022). Las principales aplicaciones de las NGS se enfocan tanto en la medicina como la investigación, como lo son: diagnóstico de enfermedades genéticas moleculares como el cáncer, estudio de genómica poblacional para conocer diversidades

genéticas y su correlación con enfermedades; por último, detección de patógenos para el análisis filogenético como su resistencia antimicrobiana (Hilt & Ferrieri, 2022).

La problemática de esta especie radica en que puede encontrarse de manera natural en el ambiente (agua, suelo y heces), existiendo un riesgo muy elevado para la contaminación de los vegetales; ya que, estos vegetales regularmente se les agrega fertilizantes obtenidos de las heces de animales donde pueden habitar bacterias, provocando igualmente el esparcimiento de antibióticos que son suministrados a los animales (Townsend et al., 2021). Otro punto importante por considerar es la presencia de *L. monocytogenes* en industrias procesadoras de alimentos como carne o lácteos, desde fases de almacenamiento, producción y transporte, esto ocurre por la presencia de ciertos genes que brindan las condiciones de supervivencia como: resistencia a bactericidas, antibióticos, temperaturas bajas, estrés, entre otras (Wiśniewski et al., 2022).

La resistencia antimicrobiana (RAM) es una de las principales amenazas a la salud mundial, provocando que las infecciones sean más complicadas de tratar. El uso de antibióticos para alguna enfermedad causada por bacterias, es considerada como la primera línea de tratamiento en una persona que presente sintomatología de intoxicación (Cartín Rojas & Pascual Barrera, 2021). La problemática ocurre cuando se les da un mal uso a estos antibióticos, ya sea por el consumo de fármacos de manera incorrecta, uso excesivo en la ganadería o diseminación global, provocando ineficacia de los antibióticos y su limitado uso frente a afecciones que pueden ser mortales (Pilco Chicaiza & Burgos Mayorga, 2025). En el estudio realizado por (Prieto et al., 2016) se realizó la evaluación de sensibilidad mediante Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de distintos antibióticos como penicilina G, ampicilina, trimetoprima-sulfametoxazol, gentamicina, eritromicina, tetraciclina, cloranfenicol y rifampicina, presentando una alta susceptibilidad en todos los antibióticos. También, se destacó la sensibilidad por parte de tetraciclina y su posible resistencia por la presencia del gen tet(M).

La especie de *L. monocytogenes* se ha reportado que cuenta con dos mecanismos de resistencia a antibióticos, de manera intrínseca y de manera adquirida. La resistencia intrínseca ocurre de manera natural, ya que se encuentra dentro de una especie bacteriana y no se encuentra relacionada directamente a exposición a antibióticos, entre las principales familias de antibióticos que presentan resistencia son: cefalosporinas, fluoroquinolonas (ciprofloxacino y levofloxacino), fosfomicina, sulfonamidas y trimetoprima (Arslan & Özdemir, 2020; Krawczyk-Balska & Markiewicz, 2016). Con respecto a la resistencia adquirida ocurre por la adquisición de plásmidos o transposones mediante mutaciones, por Transferencia Horizontal de Genes (HGT, del inglés Horizontal Gene Transfer), generando resistencia a familias de antibióticos como tetraciclinas. De esta manera, los principales mecanismos de resistencia para que ocurra esto, se da por procesos como la inactivación del antibiótico, la expulsión mediante bombas de flujo o la formación de biopelículas (Michaelis & Grohmann, 2023; Rodríguez-Patiño et al., 2024). Otro punto importante por considerar son los reportes sobre cepas de *L. monocytogenes* que presentan multirresistencia, como lo son: tetraciclinas, fluoroquinolonas y macrólidos, los principales genes adquiridos por transferencia horizontal que presentan resistencia a varios antibióticos son: tet(M) como resistencia a tetraciclinas, lnu(B) que bloquea la síntesis de proteínas siendo resistente a lincosamidas (lincomicina y clindamicina), lsa(E) permite la expulsión de antibióticos como: estreptograminas, lincosamidas y pleuromutilinas (Hanes & Huang, 2022; Yan et al., 2020). Los factores de virulencia causan daño a un hospedero mediante colonización, infección, invasión y regulación del sistema inmune, esto ocurre por la acción de proteínas y componentes estructurales, estos mismos presentan características como: adhesión, supervivencia intracelular, motilidad y diseminación. Los genes que producen una mayor patogenicidad son: hly, plcA, plcB, mpl, prfA, internalinas (A y B), las cuales son reconocidas por la isla de patogenicidad-1 (LPI-1), presentes en el ciclo intracelular (Vera et al., 2013).

Una vez mencionada la problemática, el uso de herramientas como la Secuenciación de Genoma Completo (WGS) permite el análisis de información genómica de un microorganismo con un alto nivel de especificidad. Por lo cual, en este proyecto de investigación tiene como justificación la identificación de plásmidos, genes de resistencia y virulencia del Género *Listeria spp.*, los cuales afectan a la salud de las personas. El objetivo de este estudio fue: Caracterizar genes de resistencia y factores de virulencia del Género *Listeria spp.* a partir de datos producidos por Secuenciación de Genoma Completo (WGS) mediante herramientas bioinformáticas para la comprensión de riesgos enfocados a la contaminación alimentaria y su transmisión.

2. Materiales y Métodos

2.1. Búsqueda de Bioproject e identificación de alimentos

Primero, se realizó una búsqueda de secuencias utilizando la plataforma National Center Biotechnology Information (NCBI) donde se buscó el Bioproject PRJNA1125350 y se descargó los Archivos de Secuencia de Lectura (SRA, del inglés Sequence Read Archive) a partir a Secuencias de Genoma Completo (WGS) mediante el equipo Illumina Novaseq X, donde los archivos correspondían a secuencias del Género *Listeria spp.* que fueron aisladas de alimentos listos a consumir (RTE) en Ecuador.

Tabla 1. Lecturas crudas de la sección SRA.

Número de acceso			
1. SRX26785528	18. SRX26785511	35. SRX24963592	52. SRX24963575
2. SRX26785527	19. SRX24963608	36. SRX24963591	53. SRX24963574
3. SRX26785526	20. SRX24963607	37. SRX24963590	54. SRX24963573
4. SRX26785525	21. SRX24963606	38. SRX24963589	55. SRX24963572
5. SRX26785524	22. SRX24963605	39. SRX24963588	56. SRX24963571
6. SRX26785523	23. SRX24963604	40. SRX24963587	57. SRX24963570
7. SRX26785522	24. SRX24963603	41. SRX24963586	58. SRX24963569
8. SRX26785521	25. SRX24963602	42. SRX24963585	59. SRX24963568
9. SRX26785520	26. SRX24963601	43. SRX24963584	60. SRX24963567
10. SRX26785519	27. SRX24963600	44. SRX24963583	61. SRX24963566
11. SRX26785518	28. SRX24963599	45. SRX24963582	62. SRX24963565
12. SRX26785517	29. SRX24963598	46. SRX24963581	63. SRX24963564
13. SRX26785516	30. SRX24963597	47. SRX24963580	64. SRX24963563
14. SRX26785515	31. SRX24963596	48. SRX24963579	65. SRX24963562
15. SRX26785514	32. SRX24963595	49. SRX24963578	66. SRX24963561
16. SRX26785513	33. SRX24963594	50. SRX24963577	67. SRX24963560
17. SRX26785512	34. SRX24963593	51. SRX24963576	68. SRX24963559

* Las lecturas crudas se buscaron en la plataforma NCBI, se descargaron en un formato fastq.

2.2. Ensamblaje genómico y control de calidad.

Para el análisis de las lecturas SRA se utilizó la plataforma Galaxy Australia, primero se descargó datasets en formato FASTQc mediante Get Data (Galaxy Version 3.1.1+galaxy1) (Leinonen et al., 2011) dando un output de archivos Pair-end y se realizó un filtro para trabajar con secuencias con un Average Quality de buena calidad (mayor a 30) mediante la herramienta Trimmomatic (Galaxy Version 0.36.6) (Bolger et al., 2014), se realizó un control de calidad de las secuencias mediante FASTQc (Galaxy Version 0.74+galaxy1) (Andrews, 2010). Luego, con los datos Forward y Reverse se realizó el ensamblaje del genoma con la herramienta SPAdes (Galaxy Version 3.15.5+galaxy2) (Bankevich et al., 2012) y para la evaluación de la calidad del ensamblaje se utilizó la herramienta Quast (Galaxy Version 5.2.0+galaxy1) (Gurevich et al., 2013).

2.3. Genotipificación bacteriana

La identificación del tipo de secuencia (ST) se obtuvieron mediante la herramienta Multilocus Sequence Typing (MLST) (Galaxy Version 2.22.0) (Jolley & Maiden, 2010). Para la determinación de los Linajes y Complejos Clonales (CC) se utilizó los archivos FASTA de cada muestra y se analizó mediante la plataforma Institut Pasteur.

2.4. Detección de genes de resistencia y virulencia.

Se realizó la detección de genes de resistencia, factores de virulencia y plásmidos mediante ABRicate (Galaxy Version 1.0.1) (Seemann, 2016) con una cobertura e identidad del 80%, se utilizó las Bibliotecas: Resfinder, Virulence Factor Data Base (VFDB) y Plasmid Finder.

3. Resultados

3.1. Control de calidad para ensamblaje genómico

De las 68 muestras analizadas se determinó que 66 corresponden a *L. monocytogenes* y 2 a *L. innocua*, se obtuvo una longitud de ensamblaje promedio de 304.9508,65 y 290.2202,50 pb respectivamente, tal como se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2. Parámetros de contigs de secuencias de *Listeria spp.*

Parámetros	<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. innocua</i>
N° aislados	66	2
Promedio de Longitud Total	3.049.508,65 pb	2.902.202,50 pb
Promedio de Contigs	54,48	43
N50	408.247,26	485.518,50
%G/C	37,95 %	37,47 %

* Los parámetros se los obtuvo como reporte de la herramienta Quast, para indicar la calidad del ensamblaje.

3.2. Genotipificación de *Listeria spp.*

Con respecto a la diversidad genética se identificó 49 muestras que corresponden al Linaje I, 11 muestras del Linaje II, 2 muestras de *L. innocua* y 6 muestras de *L. monocytogenes* que no correspondían a ningún Linaje. El tipo de secuencia que tuvo una mayor cantidad de muestras fue ST2 con 36, como se muestra en la Figura 1.

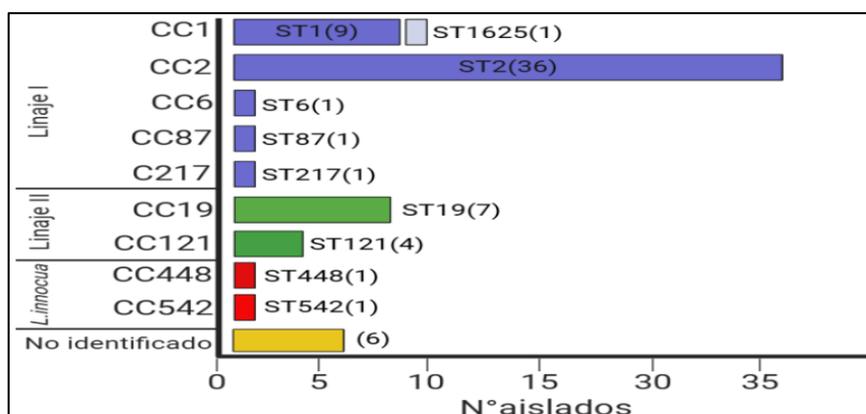


Figura 1. Número total de Tipos de Secuencia (ST), Complejos Clonales (CC) y Linajes identificados en 68 aislados del Género *Listeria spp.* de alimentos del Ecuador.

3.3. Detección de genes de virulencia, resistencia y plásmidos

En la Tabla 3 se observan las distintas locaciones cromosómicas del Género *Listeria spp.*, siendo LIPI-1 la responsable de la invasión celular, encontrándose en la mayoría de las muestras excepto en las que correspondían a *L. innocua*. Con respecto a LIPI-3, se identificó alrededor de 16 muestras que muestran genes hipervirulentos por la presencia de la Listeriolisina S (LLS). De igual manera, se identificó una gran cantidad de internalinas, destacando su ausencia en *L. innocua*. Algunas genes que participan en la interacción con el hospedero para la invasión celular se identificó en las 68 muestras como lo son: lap y iap/cwhA. Por último, genes que brindan nutrientes para la supervivencia de la bacteria se identificó en la mayoría de las muestras.

Tabla 3. Componentes taxonómicos de *Listeria spp.* en alimentos de Ecuador.

Locación cromosoma	Gen
LIPI-1	prfA (66), hly (66), mpl (66), plcA (59), plcB (66), actA (56)
LIPI-3	llsA (16), llsB (15), llsD (15), llsG (16), llsH (16), llsP (15), llsX (16), llsY (15)
Internalinas	inlA (66), inlB (65), inlC (65), inlF (61), inlK (66)
Resistencia al estrés	clpC (67), clpE (67), clpP (68), bsh (66), oatA (68), pdgA (68), prsA2 (67)
Interacción con hospedero	lap (68), lapB (64), lntA (66), iap/cwhA (68), vip (58), ami (13), aut (13)
Nutrientes	fbpA (68), hpt (66), gtcA (68), lpeA (67), lpIA1 (67), lspA (68)

* Los valores que se encuentran dentro de los paréntesis representan el número total con respecto a las 68 muestras del Bioproject.

En la Tabla 4 se observa a los distintos genes de resistencia en las 68 muestras, identificando un total de 68 muestras con el gen fosX que comprende resistencia a la fosfomicina, el cual, corresponde a una resistencia intrínseca. De igual manera, genes de multiresistencia se las identificó en algunas muestras, como lo fueron: lnu(B) y lsa(E) resistente a lincosamidas y clindamicinas, resistencia a la tetraciclina por el gen tet(M). Se identificó en su gran mayoría al plásmido pLM5578 en 18 muestras, el plásmido ColRNAI-1 en 11 muestras y 2 muestras con plásmido J1776.

Tabla 4. Genes de resistencia y plásmidos del Género *Listeria spp.*

Gen - Multirresistencia		Plásmidos
fosX (68)	Fosfomicina	ColRNAI-1 (11)
lsa(E) (4)	Lincomicina, Clindamicina, Dalfopristina, Pristinamicina_IIA, Virginiamicina_M, Tiamulina	J1776 (2)
tet(M) (1)	Doxiciclina, Tetraciclina, Minociclina	pLM5578 (18)
lnu(B) (4)	Lincomicina, Clindamicina	

* Los valores que se encuentran dentro de los paréntesis representan el número total con respecto a las 68 muestras del Bioproject.

Relación entre Linajes y el Resistoma bacteriano

Como se puede observar en la Figura 2, hay cepas que comprenden un gran nivel de virulencia que corresponden al Linaje I, donde todas estas cepas cuentan con genes de LIPI-3. Con respecto a genes que causan invasión celular por la presencia de LIPI-1, el CC6 y CC217 cuentan con los 6 genes responsables de esto mientras que en el CC1 no se encontraron todos estos genes. De igual manera, se identificó en todas las cepas la presencia de internalinas, nutrientes y ciertos genes que participan en la interacción con el hospedero. Con respecto a genes de resistencia, todas las cepas presentan resistencia a la fosfomicina y se identificó a dos plásmidos J1776.

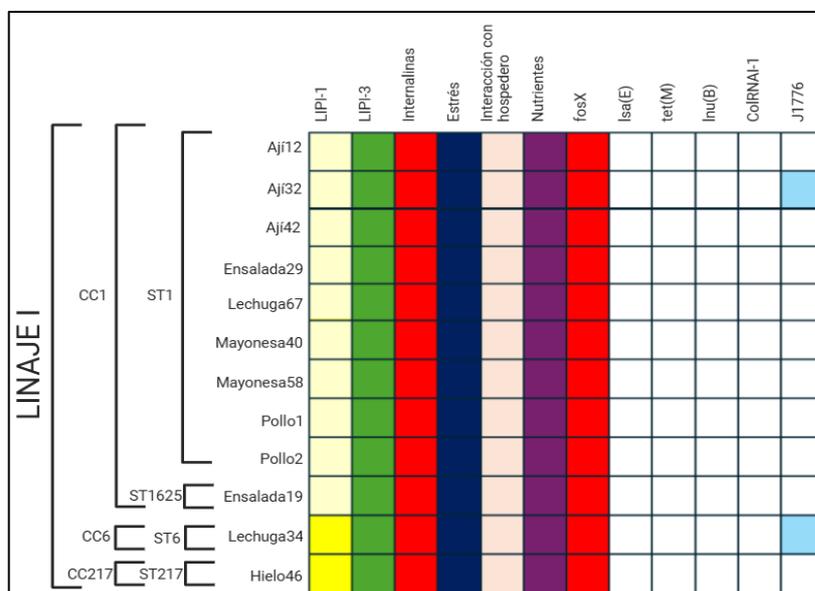


Figura 2. Mapa de calor que representa los distintos niveles de virulencia, genes y plásmidos asociados al resistoma bacteriano del Linaje I con la presencia de LIPI-3 de *L. monocytogenes*.

En la Figura 3 se observa las muestras que pertenecen al Linaje I, destacando la ausencia de LIPI-3, tanto en el CC2 como en el CC87 se encontró presente todos los genes que comprende LIPI-1, causante de la invasión celular. Se identificó en todas las cepas a las internalinas y genes que brindan nutrientes, hubo menor presencia en genes que corresponden a la resistencia al estrés y una mayor expresión de genes de interacción con el hospedero. Además, en todas las cepas hubo solamente la resistencia a la fosfomicina, pero hubo una mayor presencia de plásmidos como: pLM5578, ColRNAI-1 y J1776 con respecto al CC2.

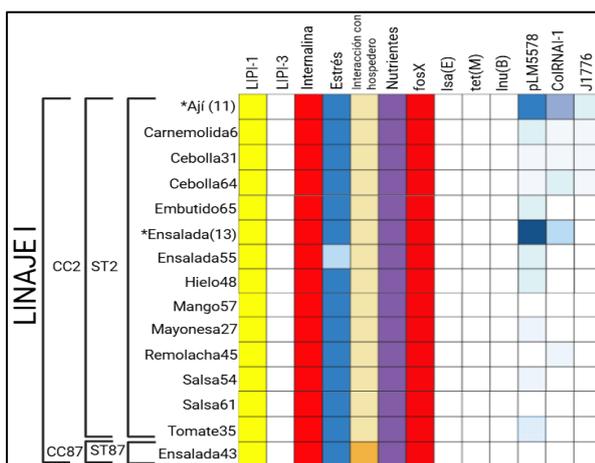


Figura 3. Mapa de calor que representa los distintos niveles de virulencia, genes y plásmidos asociados al resistoma bacteriano del Linaje I con la ausencia de LIPI-3 de *L. monocytogenes*. *Representa el número de muestras que son similares y presentan la misma cantidad de genes.

En la Figura 4, se observa a las cepas que pertenecen al Linaje II, existiendo una gran diferencia entre niveles de virulencia. Donde, el CC19 cuenta con todos los genes de LIPI-1 como de internalinas, mientras que el CC121 no presenta todos los genes de LIPI-1 y no existe presencia de internalinas. En ambos clones no se identificó la presencia de genes de LIPI-3, pero si hubo la presencia de todos los genes de resistencia al estrés como la producción de nutrientes y hubo una mayor expresión de genes de interacción con el huésped por parte de CC121. Con respecto a la resistencia antimicrobiana, en todas las cepas se identificó al gen fosX; de igual manera, se identificó solamente un gen tet(M) en el CC19 y todas las cepas del CC121 presentaron resistencia con los genes lsa(E) y lnu(B); así mismo, no hubo la presencia de plásmidos.

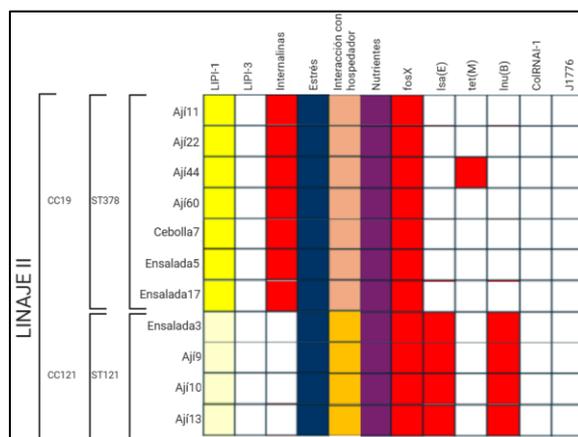


Figura 4. Mapa de calor que representa los distintos niveles de virulencia, genes y plásmidos asociados al resistoma bacteriano del Linaje II.

Con respecto a *L. innocua*, se observa la ausencia de genes responsables de la invasión celular como lo es LIPI-1 o internalinas, por lo cual, se la considera no patógena. Además, hubo la presencia de ciertos genes que pertenecen a LIPI-1, interacción con el hospedero y nutrientes. Se identificó la presencia de resistencia a fosfomicina, como también a los plásmidos ColRNAI-1 y J1776.

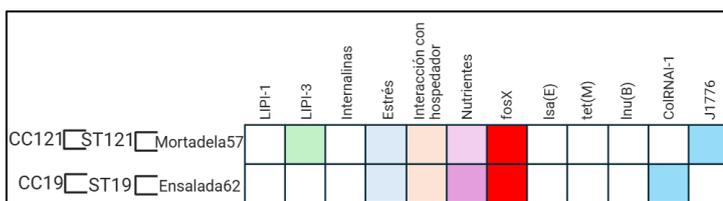


Figura 5. Factores de virulencia, genes de resistencia y plásmidos de cepas de *L. innocua*.

En la Figura 6, se encuentran los genes que no pertenecían a ningún tipo de secuencia o linaje por la mutación de algún gen housekeeping. Se identificó una gran variedad en la expresión de factores de virulencia indicando un cierto potencial de patogenicidad; además, solo hubo resistencia a la fosfomicina y la presencia del plásmido ColRNAI-1.

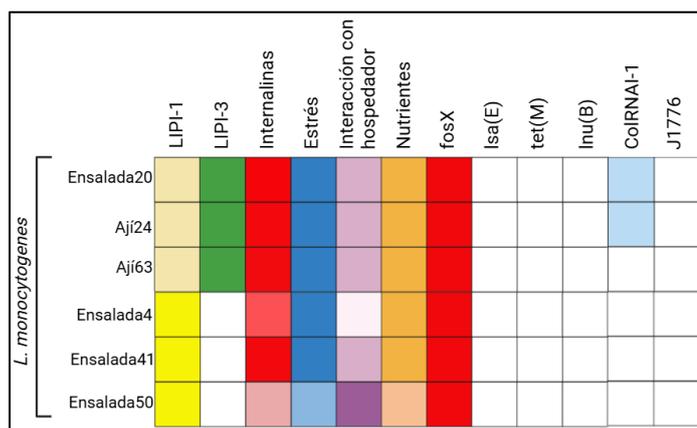


Figura 6. Factores de virulencia, genes de resistencia y plásmidos de cepas de *L. monocytogenes* a las cuales no correspondían a ningún linaje.

4. Discusión

El uso de tecnologías de secuenciación masiva representa una herramienta fundamental para el análisis epidemiológico, ya que permite la identificación de microorganismos patógenos de interés, genes de resistencia, factores de virulencia y plásmidos. Su aplicación en la vigilancia epidemiológica facilita la detección de posibles brotes o cadenas de transmisión, lo que resulta importante para la toma de decisiones en tratamientos y la prevención de enfermedades (Comas et al., 2020). En esta investigación se identificaron distintos grados de virulencia en los dos linajes de *L. monocytogenes*, los cuales mostraron una relación directa con los distintos tipos de listeriosis (invasiva o no invasiva). Además, se observó una asociación en la expresión de genes de resistencia y factores de virulencia, dependiendo del linaje al que pertenecían.

El tamaño promedio del genoma ensamblado de *L. monocytogenes* en este estudio fue de 3.049.508,65 pb, con un promedio de contigs de 54,48 y un valor N50 de 408.247,46 pb. Por otro lado, para *L. innocua* se obtuvo un tamaño promedio de 2.902.202,50 pb, con 43 contigs y un valor N50 de 485.518,50 pb. Siendo estos parámetros fundamentales para evaluar la calidad del ensamblaje, ya que un valor elevado de N50 y cercano al tamaño total del genoma indica una mayor continuidad y menor fragmentación del ensamblaje; así mismo, un menor número de contigs indica una mejor calidad del genoma ensamblado (Cortese et al., 2021). En comparación con los estudios realizados por (Wei et al., 2024) se reporta un tamaño genómico promedio de 2.990.000 pb para *L. monocytogenes* y para *L. innocua* un tamaño de 2.840.000 pb, valores similares a los obtenidos en este estudio. Los valores promedio de N50 fueron de 260.000 y 750.000 para *L. monocytogenes* y *L. innocua*, respectivamente. Otro estudio realizado por (Afrin et al., 2025) indica haber obtenido una longitud total de 2.843.726 pb de *L. monocytogenes*, 31 contigs y un valor N50 de 475.872 pb, siendo valores aproximados a los obtenidos en este estudio. De tal manera, los valores obtenidos se encuentran dentro de los rangos reportados bibliográficamente con respecto al tamaño del genoma, valores de N50 y contigs.

Se identificaron los clones: CC1, CC2, CC6, CC87 y CC217, que pertenecen al Linaje I, el cual es predominante en infecciones humanas como la listeriosis, siendo el linaje más virulento. Así mismo, se identificaron los clones CC19 y CC121 que forman parte del Linaje II, generalmente asociados a la contaminación en ambientes de procesamiento de alimentos, los cuales presentan una menor virulencia (Ulloa et al., 2019). En la investigación realizada por (Gianecini et al., 2024) utilizaron muestras aisladas de humanos y de alimentos como ensaladas, embutidos, vegetales congelados mediante Secuenciación de Genoma Completo (WGS). Las lecturas fueron procesadas con herramientas bioinformáticas como: Unicycler, Quast y MLST, identificándose clones similares a los de este estudio como: CC1, CC2, CC6, CC121. Resaltando la importancia de WGS como herramienta para la identificación de cepas circulantes de *L. monocytogenes* con distintos grados de virulencia en muestras humanas como alimentarias. Además, (Orsi et al., 2011) indica que existe una mayor distribución del Linaje I en comparación al Linaje II, mencionándolo como un problema relevante debido a su asociación con casos clínicos humanos. E cuanto a la frecuencia de la genotipificación, se obtuvo un 72,05% de secuencias que pertenecen al Linaje I, un 16,18% al Linaje II, 2,94% correspondía a *L. innocua* y un 8,82% no pudo ser clasificado a ningún linaje. Así, los resultados obtenidos indican una mayor prevalencia a cepas del Linaje I, concordando con su papel predominante en infecciones humanas.

La (RAM) representa una gran problemática en el tratamiento de enfermedades causadas por agentes biológicos, ya que puede aumentar la tasa de mortalidad dependiendo del microorganismo involucrado. Esta resistencia se origina principalmente por el uso inadecuado de antibióticos y por procesos evolutivos naturales de las bacterias, facilitando su diseminación en el medio ambiente y en entornos de procesamiento de alimentos (EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ) et al., 2021). Por lo cual, el monitoreo constante de patógenos alimentarios es importante y puede

lograrse mediante tecnologías como las NGS, generalmente la determinación del Genoma Completo para la identificación de cepas de alto riesgo. Así, utilizando herramientas bioinformáticas como ABRicate y la biblioteca Resfinder, se identificó el gen *fosX* en las 68 muestras analizadas, siendo un gen de resistencia intrínseco que se encuentra de manera natural en el genoma del Género *Listeria spp.* (Avershina et al., 2023). También se identificaron genes con multiresistencia a antibióticos, entre ellos *lsa(E)*, *tet(M)* y *lnu(B)*. El gen *lnu(B)* confiere resistencia a la familia de las Lincosamidas (lincomicina y clindamicina), al interferir en la síntesis proteica de la subunidad 50S del ribosoma. Por otro lado, el gen *tet(M)* otorga resistencia a antibióticos de la familia de la Tetraciclina como: Minociclina, Doxiciclina y Tetraciclina, afectando la síntesis proteica. En cuanto al gen *lsa(E)* aunque es similar a *lnu(B)*, confiere resistencia a un espectro más amplio de antibióticos, incluyendo Dalfopristina y Tiamulina (Pacheco et al., 2020). Es importante destacar que el tratamiento de la listeriosis se basa en el uso de antibióticos como penicilinas de amplio espectro como la ampicilina en conjunto con la gentamicina, siendo la combinación de estos betalactámicos y aminoglicósidos una terapia combinada para la inhibición de *L. monocytogenes* mediante la formación de proteínas truncadas en el proceso de traducción del ARNm, provocando un daño a la membrana celular para causar una muerte celular rápida (Ng et al., 2023).

La resistencia a los antibióticos mencionados: *fos(X)*, *tet(M)*, *lnu(B)* y *lsa(E)* se encuentran mediados por procesos bioquímicos que permiten a *L. monocytogenes* evadir su acción inhibitoria y seguir infectando al hospedero. Como el caso de *fosX*, este gen brinda resistencia a la fosfomicina debido a una inactivación enzimática de la enzima MurA, fundamental en la síntesis de la pared celular, esta inactivación ocurre por la hidrólisis del anillo epóxido de la fosfomicina. Otro mecanismo de resistencia por *L. monocytogenes* es la modificación del sitio de acción del antibiótico, característico de los genes *lsa(E)* y *lnu(B)*, que modifican al ribosoma 50S, esta subunidad es la responsable de impedir la elongación de la cadena polipeptídica, donde *L. monocytogenes* realiza una metilación y reduce la afinidad del antibiótico permitiendo que continúe la síntesis de proteínas. De igual manera, el gen *tet(M)* produce cambios en el sitio de unión ribosoma 30S, ya que este sitio es donde actúan las tetraciclinas para la inhibición de la síntesis proteica, evitando la unión del ARNt en el sitio A (Aminoacil-tRNA) (Conceição et al., 2023).

Por otro lado, los plásmidos son los encargados de transportar información genética y se replican de manera independiente del cromosoma. Importantes en procesos de adaptación y evolución de las bacterias, ya que pueden portar genes de resistencia a antimicrobianos, factores de virulencia, producción de bacteriocinas o biofilms (Beceiro et al., 2012). En este estudio, se identificó la presencia del plásmido *pLM5578* en 18 muestras, este plásmido comprende alrededor de 79 genes que favorecen la supervivencia en ambientes con altas concentraciones de metales pesados. Entre ellos, destacan los genes *cadA* y *cadC* que brindan resistencia al Cadmio (Baldry, 2010). Dentro de este plásmido se destaca también la presencia del gen *proW*, que permite la resistencia al estrés osmótico al regular los niveles de salinidad y prevenir la desecación de la bacteria. No se han relacionado genes de resistencia a antimicrobianos en este plásmido, ya que su función principal es la supervivencia en entornos con condiciones de alta salinidad o elevada concentración de metales pesados (Kragh & Truelstrup Hansen, 2020). También se identificó el plásmido *J1776* en una muestra de *L. monocytogenes* y otra en *L. innocua*, este plásmido confiere genes de resistencia a agentes antimicrobianos como el amonio cuaternario, el cual es utilizado para la desinfección en la industria alimentaria, como lo es el gen *bcrABC* (Manquele et al., 2024). Por último, se identificó en 11 muestras el plásmido *ColRNAI-1*, que a diferencia de *pLM5578* y *J1776*, no contiene genes de resistencia a antibióticos o al estrés, pero si puede funcionar como vector en la diseminación de elementos genéticos móviles entre bacterias. Este plásmido se encuentra principalmente en bacterias gram negativas como: *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter europaeus* y *Morganella morganii*; por lo cual, se podría considerar que su presencia en cepas de *L. monocytogenes* ocurrió mediante mecanismos de transferencia horizontal de genes como: conjugación, transformación o transducción (Sugita et al., 2021).

A través de los mapas de calor se identificó la variabilidad genética entre los distintos linajes, así mismo los tipos de secuencia (ST) y complejos clonales (CC), los cuales están directamente relacionados con un nivel alto o bajo de virulencia según el linaje al que corresponden. En el Linaje I se observó una gran diferencia entre los distintos complejos clonales, siendo CC1, CC6 y CC217 los clones más virulentos debido a la presencia de LIPI-3. Por lo cual, dentro del mismo linaje, el CC2 y CC87 no presentan genes de LIPI-3. Otra diferencia clave es la distribución de los genes de LIPI-1: mientras que en CC1 no se detectaron en su totalidad, los clones CC2 y CC87 sí estuvieron presentes, los cuales son indispensables para la invasión celular en un hospedador (Wiktorczyk-Kapischke et al., 2023). Se conoce que los genes de LIPI-3 se encuentran altamente conservados en ST1, lo que coincide con los resultados de esta investigación y respalda la consideración de ser las cepas más virulentas (Lakicevic et al., 2022). A pesar de pertenecer al Linaje I, los clones CC2 y CC87 no presentan genes de LIPI-3, atribuyéndose a razones evolutivas y filogenéticas para su supervivencia en el medioambiente. Igualmente son virulentas por la presencia de genes de LIPI-1 e internalinas, lo que demuestra que dentro de un mismo linaje pueden existir distintos grados de virulencia (Muchaamba et al., 2022). Con respecto a las secuencias del Linaje II se identificaron dos clones: CC19 y CC121, ambos carecían de genes de la LIPI-3, mientras que el clon CC19 contaba con todos los genes de LIPI-1, CC121 no los tenía en su totalidad y lo más relevante es que no contaba con internalinas, por lo cual se la consideran cepas menos virulentas, ya que este Linaje está asociado más con su prevalencia en entornos alimentarios (Quereda et al., 2021).

De igual manera, se identificó a *L. innocua* que es una especie muy similar a *L. monocytogenes* en morfología y genética, su diferencia radica en la ausencia de factores de virulencia en su genoma. Por lo cual, la falta de genes de LIPI-1, LIPI-3 o internalinas, hacen que esta especie no patógena no pueda cumplir con su potencial virulento. En esta investigación se identificó en la muestra de mortadela la presencia de algunos genes que pertenecían a LIPI-3, pero no se la puede considerar virulenta especialmente por no tener al gen *prfA*, que es el encargado de regular los genes de LIPI-1; también, no puede existir una invasión celular por la ausencia de internalinas (Vera et al., 2013). La variabilidad en la virulencia de *L. monocytogenes* se debe a la estructura genética de cada linaje y la presencia de genes específicos; por lo cual, algunos linajes están adaptados para sobrevivir en el medio ambiente o en entornos alimentarios, otros han evolucionado para causar infecciones en humanos; así, los clones que presentan LIPI-3 han sido asociados con brotes severos de listeriosis humana en poblaciones vulnerables. Según (Gianecini et al., 2024), su estudio reportó una mayor prevalencia de ST1, mencionando que esto ocurre por su capacidad de persistencia y adaptación en el hospedador. Un estudio similar realizado por (Daza Prieto et al., 2024) indica la prevalencia de LIPI-3 en clones hipervirulentos como ST1 obtenidos en diferentes industrias; también, identificaron que el ST121 no portaban a genes de LIPI-3, siendo similares a los clones reportados en este estudio.

La identificación de microorganismos patógenos permite garantizar la seguridad alimentaria, con el gran avance de la Secuenciación masiva se puede identificar a fondo el resistoma bacteriano de microorganismos presentes en alimentos y sus fuentes de contaminación, conociendo su papel en la cadena alimentaria y donde presentan una mayor prevalencia, esto permite implementar un monitoreo y control para una detección precisa de microorganismos potenciales con resistencia antimicrobiana (Hernández et al., 2020). Esta investigación utilizó lecturas obtenidas a partir de Secuenciación de Genoma Completo para realizar un ensamblaje genómico y lograr determinar todos los genes que se encuentran presentes en un microorganismo patógeno a partir de alimentos listos a consumir, donde el consumo de estos alimentos contaminados con bacterias puede causar un impacto a la salud de la persona como lo es el caso de la listeriosis. De tal manera, el uso de las técnicas de Secuenciación Masiva permite conocer un panorama sobre la presencia de genes de resistencia, permitiendo así la toma de decisiones al momento de tratar algún paciente y evitar el uso de estos antibióticos.

5. Conclusiones

Las herramientas bioinformáticas permitieron ensamblar genomas y aplicar controles de calidad en las secuencias a partir de datos obtenidos mediante Secuenciación de Genoma Completo (WGS), para la detección de genes de resistencia, factores de virulencia, plásmidos e identificación de diversidad genética mediante genotipificación. Siendo esto muy importante para la detección de cepas de interés para reportar posibles brotes que afecten a la salud por el consumo de alimentos contaminados.

La principal problemática de *L. monocytogenes* es su alta mortalidad que se encuentra enfocada a grupos vulnerables, la listeriosis puede ser de manera invasiva o no invasiva, siendo esta primera la más problemática por su diseminación mediante el torrente sanguíneo. Por lo cual, mediante bibliografía se conoce que esta listeriosis invasiva ocurre por la presencia de factores de virulencia que pertenecen a locaciones cromosómicas como: LIPI-1, LIPI-3 e internalinas. Así, en este estudio se identificó la presencia de estos factores considerando a LIPI-3 como la más hipervirulenta por la presencia de la proteína Listeriolisina S (LLS).

Se identificó cierta relación entre los Linajes de *L. monocytogenes* con la expresión de genes de resistencia y factores de virulencia, siendo el Linaje I el más virulento relacionado con infecciones humanas como la listeriosis, debido a la presencia de factores de virulencia de LIPI-3 como también internalinas, presentes en CC1, CC6 y CC87. Por otro lado, el Linaje II es menos virulento por la ausencia de LIPI-3 y el CC121 igualmente tenía la ausencia de internalinas, este Linaje se asocia a la contaminación en entornos alimentarios, encontrándose a los CC19 y CC121, identificándose también genes de resistencia como *tet(M)* en CC19 y genes como: *Isa(E)* y *lnu(B)* en CC121.

Por último, los resultados obtenidos son de gran importancia para la seguridad alimentaria y salud pública, evidenciando cepas de *L. monocytogenes* en alimentos con un potencial de causar infecciones severas, especialmente en poblaciones vulnerables. La detección de cepas que portan LIPI-3 indican la implementación de estrategias como protocolos de desinfección en la industria, para prevenir brotes de listeriosis. Destacando profundizar la caracterización genética para conocer los factores que influyen en su diseminación en el medio ambiente.

Financiamiento/Fondos: “Esta investigación no recibió financiación externa”

Agradecimientos: A mi tutor Andrés Herrera, por la paciencia y confianza brindada en la ejecución de este proyecto. A mis docentes de la Maestría en Biomedicina, por brindarme conocimientos y experiencias muy enriquecedoras. A mis padres y a mi familia por el apoyo brindado desde el inicio de esta etapa. A mis amigos de la Maestría, por compartir varios momentos de diversión como de estudio.

Conflictos de Interés: Los autores declaran no tener conflictos de interés.

Referencias citadas

- 1) Afrin, S., Netherland, M., Habib, H., Hasan, N., & Ahmed, S. (2025). Draft genome sequence of *Listeria monocytogenes* BDSA strain isolated from ready-to-eat chicken product in Dhaka, Bangladesh. *Microbiology Resource Announcements*, *14*(2), e00956-24. <https://doi.org/10.1128/mra.00956-24>
- 2) Andrews, S. (2010). *FastQC: a quality control tool for high throughput sequence data*. <http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>
- 3) Arslan, S., & Özdemir, F. (2020). Prevalence and antimicrobial resistance of *Listeria* species and molecular characterization of *Listeria monocytogenes* isolated from retail ready-to-eat foods. *FEMS Microbiology Letters*, *367*(4), fnaa006. <https://doi.org/10.1093/femsle/fnaa006>
- 4) Avershina, E., Khezri, A., & Ahmad, R. (2023). Clinical Diagnostics of Bacterial Infections and Their Resistance to Antibiotics—Current State and Whole Genome Sequencing Implementation Perspectives. *Antibiotics*, *12*(4), 781. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12040781>
- 5) Baldry, S. (2010). Attack of the clones. *Nature Reviews Microbiology*, *8*(6), 390-390. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2369>
- 6) Bankevich, A., Nurk, S., Antipov, D., Gurevich, A. A., Dvorkin, M., Kulikov, A. S., Lesin, V. M., Nikolenko, S. I., Pham, S., Prjibelski, A. D., Pyshkin, A. V., Sirotkin, A. V., Vyahhi, N., Tesler, G., Alekseyev, M. A., & Pevzner, P. A. (2012). SPAdes: A New Genome Assembly Algorithm and Its Applications to Single-Cell Sequencing. *Journal of Computational Biology*, *19*(5), 455-477. <https://doi.org/10.1089/cmb.2012.0021>
- 7) Beceiro, A., Tomás, M., & Bou, G. (2012). Resistencia a los antimicrobianos y virulencia, ¿una asociación beneficiosa para el mundo microbiano? *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, *30*(8), 492-499. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2012.01.011>
- 8) Bolger, A. M., Lohse, M., & Usadel, B. (2014). Trimmomatic: A flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics*, *30*(15), 2114-2120. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu170>
- 9) Bongiovanni, M., Cavallo, C., Barda, B., Strulak, L., Bernasconi, E., & Cardia, A. (2024). Clinical Findings of *Listeria monocytogenes* Infections with a Special Focus on Bone Localizations. *Microorganisms*, *12*(1), 178. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12010178>
- 10) Cartín Rojas, A., & Pascual Barrera, A. (2021). Alimentos de origen animal y Enfermedades de Transmisión Alimentaria en Costa Rica: 2015- 2020. *UNED Research Journal*, *13*(2). <https://doi.org/10.22458/urj.v13i2.3587>

- 11) Comas, I., Cancino-Muñoz, I., Mariner-Llicer, C., Goig, G. A., Ruiz-Hueso, P., Francés-Cuesta, C., García-González, N., & González-Candelas, F. (2020). Uso de las tecnologías de secuenciación masiva para el diagnóstico y epidemiología de enfermedades infecciosas. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 38, 32-38. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2020.02.006>
- 12) Conceição, S., Queiroga, M. C., & Laranjo, M. (2023). Antimicrobial Resistance in Bacteria from Meat and Meat Products: A One Health Perspective. *Microorganisms*, 11(10), 2581. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11102581>
- 13) Cortese, I. J., Castrillo, M. L., Zapata, P. D., & Laczkeski, M. E. (2021). EFECTO DEL FILTRADO DE SECUENCIAS EN EL ENSAMBLADO DEL GENOMA DE *Bacillus altitudinis* AISLADO DE *Ilex paraguariensis*. *Acta Biológica Colombiana*, 26(2), 170-177. <https://doi.org/10.15446/abc.v26n2.86406>
- 14) Cortés-Sánchez, A. D. J., Díaz-Ramírez, M., & Guzmán-Medina, C. A. (2018). Sobre *Bacillus cereus* y la inocuidad de los alimentos (una revisión). *Revista de Ciencias*, 22(1). <https://doi.org/10.25100/rc.v22i1.7101>
- 15) Daza Prieto, B., Pietzka, A., Martinovic, A., Ruppitsch, W., & Zuber Bogdanovic, I. (2024). Surveillance and genetic characterization of *Listeria monocytogenes* in the food chain in Montenegro during the period 2014–2022. *Frontiers in Microbiology*, 15, 1418333. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1418333>
- 16) EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ), Koutsoumanis, K., Allende, A., Álvarez-Ordóñez, A., Bolton, D., Bover-Cid, S., Chemaly, M., Davies, R., De Cesare, A., Herman, L., Hilbert, F., Lindqvist, R., Nauta, M., Ru, G., Simmons, M., Skandamis, P., Suffredini, E., Argüello, H., Berendonk, T., ... Peixe, L. (2021). Role played by the environment in the emergence and spread of antimicrobial resistance (AMR) through the food chain. *EFSA Journal*, 19(6). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6651>
- 17) Fernández, S., Marcía, J., Bu, J., Baca, Y., Chávez, V., Montoya, H., Varela, I., Ruiz, J., Lagos, S., & Ore, F. (2021). Enfermedades transmitidas por Alimentos (Etas); Una Alerta para el Consumidor. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 5(2), 2284-2298. https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v5i2.433
- 18) Gianecini, R. A., Cipolla, L., Rocca, F., Campos, J., Poklepovich, T., & Prieto, M. (2024). Caracterización molecular de aislamientos de *Listeria monocytogenes* de origen humano y alimentario en Argentina, 2018-2023. *Revista Argentina de Microbiología*, 56(3), 329-335. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2024.03.002>
- 19) Gurevich, A., Saveliev, V., Vyahhi, N., & Tesler, G. (2013). QUASt: Quality assessment tool for genome assemblies. *Bioinformatics*, 29(8), 1072-1075. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btt086>

-
- 20) Hagar, E., & Hassan Hagar, A. (2022). *Next-generation sequencing with emphasis on Illumina and Ion torrent platforms*. <https://doi.org/10.14293/S2199-1006.1.SOR-PPA9N9O.v1>
- 21) Hanes, R. M., & Huang, Z. (2022). Investigation of Antimicrobial Resistance Genes in *Listeria monocytogenes* from 2010 through to 2021. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(9), 5506. <https://doi.org/10.3390/ijerph19095506>
- 22) Havelaar, A. H., Kirk, M. D., Torgerson, P. R., Gibb, H. J., Hald, T., Lake, R. J., Praet, N., Bellinger, D. C., De Silva, N. R., Gargouri, N., Speybroeck, N., Cawthorne, A., Mathers, C., Stein, C., Angulo, F. J., Devleeschauwer, B., & on behalf of World Health Organization Foodborne Disease Burden Epidemiology Reference Group. (2015). World Health Organization Global Estimates and Regional Comparisons of the Burden of Foodborne Disease in 2010. *PLOS Medicine*, 12(12), e1001923. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1001923>
- 23) Hernández, M., Quijada, N. M., Rodríguez-Lázaro, D., & Eiros, J. M. (2020). Aplicación de la secuenciación masiva y la bioinformática al diagnóstico microbiológico clínico. *Revista Argentina de Microbiología*, 52(2), 150-161. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2019.06.003>
- 24) Hilt, E. E., & Ferrieri, P. (2022). Next Generation and Other Sequencing Technologies in Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases. *Genes*, 13(9), 1566. <https://doi.org/10.3390/genes13091566>
- 25) Jolley, K. A., & Maiden, M. C. (2010). BIGSdb: Scalable analysis of bacterial genome variation at the population level. *BMC Bioinformatics*, 11(1), 595. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-11-595>
- 26) Kragh, M. L., & Truelstrup Hansen, L. (2020). Initial Transcriptomic Response and Adaption of *Listeria monocytogenes* to Desiccation on Food Grade Stainless Steel. *Frontiers in Microbiology*, 10, 3132. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.03132>
- 27) Krawczyk-Balska, A., & Markiewicz, Z. (2016). The intrinsic cephalosporin resistome of *Listeria monocytogenes* in the context of stress response, gene regulation, pathogenesis and therapeutics. *Journal of Applied Microbiology*, 120(2), 251-265. <https://doi.org/10.1111/jam.12989>
- 28) Lakicevic, B. Z., Den Besten, H. M. W., & De Biase, D. (2022). Landscape of Stress Response and Virulence Genes Among *Listeria monocytogenes* Strains. *Frontiers in Microbiology*, 12, 738470. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.738470>

- 29) Leinonen, R., Sugawara, H., Shumway, M., & on behalf of the International Nucleotide Sequence Database Collaboration. (2011). The Sequence Read Archive. *Nucleic Acids Research*, 39(Database), D19-D21. <https://doi.org/10.1093/nar/gkq1019>
- 30) Logue, C. M., & Nde, C. W. (2017). Rapid Microbiological Methods in Food Diagnostics. En F. Toldrá & L. M. L. Nollet (Eds.), *Advances in Food Diagnostics* (1.^a ed., pp. 153-185). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781119105916.ch6>
- 31) Manqele, A., Adesiyun, A., Mafuna, T., Pierneef, R., Moerane, R., & Gcebe, N. (2024). Virulence Potential and Antimicrobial Resistance of *Listeria monocytogenes* Isolates Obtained from Beef and Beef-Based Products Deciphered Using Whole-Genome Sequencing. *Microorganisms*, 12(6), 1166. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12061166>
- 32) Matto, C., D'Alessandro, B., Mota, M. I., Braga, V., Buschiazzo, A., Giannechini, E., Varela, G., & Rivero, R. (2022). *Listeria innocua* isolated from diseased ruminants harbour minor virulence genes of *L. monocytogenes*. *Veterinary Medicine and Science*, 8(2), 735-740. <https://doi.org/10.1002/vms3.710>
- 33) Michaelis, C., & Grohmann, E. (2023). Horizontal Gene Transfer of Antibiotic Resistance Genes in Biofilms. *Antibiotics*, 12(2), 328. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12020328>
- 34) MSP. (2025). *Subsistema de vigilancia Sive- Alerta. Enfermedades transmitidas por agua y alimentos*. <https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2025/02/ETAS-SE-07-1.pdf>
- 35) Muchaamba, F., Eshwar, A. K., Stevens, M. J. A., Stephan, R., & Tasara, T. (2022). Different Shades of *Listeria monocytogenes*: Strain, Serotype, and Lineage-Based Variability in Virulence and Stress Tolerance Profiles. *Frontiers in Microbiology*, 12, 792162. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.792162>
- 36) Muñoz, A. I., & Rodríguez, E. C. (2021). Distribución y caracterización fenotípica y genotípica de *Listeria monocytogenes* en aislamientos de alimentos, Colombia, 2010-2018. *Biomédica*, 41(Sp. 2), 165-179. <https://doi.org/10.7705/biomedica.6152>
- 37) Ng, H. F., Ng, J. M. L., & Ngeow, Y. F. (2023). Mechanisms of Gentamicin Resistance in *Listeria Monocytogenes*: A Mini Review. *Sains Malaysiana*, 52(9), 2625-2632. <https://doi.org/10.17576/jsm-2023-5209-12>
- 38) Orsi, R. H., Bakker, H. C. D., & Wiedmann, M. (2011). *Listeria monocytogenes* lineages: Genomics, evolution, ecology, and phenotypic characteristics. *International Journal of Medical Microbiology*, 301(2), 79-96. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2010.05.002>

- 39) Orsi, R. H., Liao, J., Carlin, C. R., & Wiedmann, M. (2024). Taxonomy, ecology, and relevance to food safety of the genus *Listeria* with a particular consideration of new *Listeria* species described between 2010 and 2022. *mBio*, *15*(2), e00938-23. <https://doi.org/10.1128/mbio.00938-23>
- 40) Osek, J., & Wieczorek, K. (2023). Why does *Listeria monocytogenes* survive in food and food-production environments? *Journal of Veterinary Research*, *67*(4), 537-544. <https://doi.org/10.2478/jvetres-2023-0068>
- 41) Pacheco, P., Suárez, M., & Esparza, J. (2020). *Descripción general de los principales grupos de fármacos antimicrobianos. Antibióticos*. (Versión 3). Guía_ABE. Infecciones en Pediatría. <https://www.guia-abe.es>
- 42) Pilco Chicaiza, A. D., & Burgos Mayorga, A. R. (2025). Revisión bibliográfica: Factores que contribuyen a la propagación de resistencia antimicrobiana (RAM) en la fauna silvestre. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, *8*(6), 7927-7952. https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v8i6.15477
- 43) Prieto, M., Martínez, C., Aguerre, L., Rocca, M. F., Cipolla, L., & Callejo, R. (2016). Antibiotic susceptibility of *Listeria monocytogenes* in Argentina. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, *34*(2), 91-95. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2015.03.007>
- 44) Quereda, J. J., Morón-García, A., Palacios-Gorba, C., Dessaux, C., García-del Portillo, F., Pucciarelli, M. G., & Ortega, A. D. (2021). Pathogenicity and virulence of *Listeria monocytogenes*: A trip from environmental to medical microbiology. *Virulence*, *12*(1), 2509-2545. <https://doi.org/10.1080/21505594.2021.1975526>
- 45) Rodríguez-Patiño, E., Betancourth-Arteaga, I., Romero-Martínez, A. L., & Chávez-Vivas, M. (2024). Bacterias resistentes a los antibióticos en alimentos de origen animal. Revisión sistemática. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, *73*(4), 313-327. <https://doi.org/10.37527/2023.73.4.006>
- 46) Sarr, M., Alou, M. T., Padane, A., Diouf, F. S., Beye, M., Sokhna, C., Fenollar, F., Mboup, S., Raoult, D., & Million, M. (2023). A review of the literature of *Listeria monocytogenes* in Africa highlights breast milk as an overlooked human source. *Frontiers in Microbiology*, *14*, 1213953. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1213953>
- 47) Satam, H., Joshi, K., Mangrolia, U., Waghoo, S., Zaidi, G., Rawool, S., Thakare, R. P., Bandy, S., Mishra, A. K., Das, G., & Malonia, S. K. (2023). Next-Generation Sequencing Technology: Current Trends and Advancements. *Biology*, *12*(7), 997. <https://doi.org/10.3390/biology12070997>
- 48) Schoder, D., Guldemann, C., & Märklbauer, E. (2022). Asymptomatic Carriage of *Listeria monocytogenes* by Animals and Humans and Its Impact on the Food Chain. *Foods*, *11*(21), 3472. <https://doi.org/10.3390/foods11213472>

-
- 49) Seemann, T. (2016). *ABRicate: Mass screening of contigs for antibiotic resistance genes*. <https://github.com/tseemann/abricate>
- 50) Sugita, K., Aoki, K., Komori, K., Nagasawa, T., Ishii, Y., Iwata, S., & Tateda, K. (2021). Molecular Analysis of *bla*_{KPC-2} -Harboring Plasmids: Tn *4401a* Interplasmid Transposition and Tn *4401a* -Carrying ColRNAI Plasmid Mobilization from *Klebsiella pneumoniae* to *Citrobacter europaeus* and *Morganella morganii* in a Single Patient. *mSphere*, 6(6), e00850-21. <https://doi.org/10.1128/mSphere.00850-21>
- 51) Townsend, A., Strawn, L. K., Chapman, B. J., & Dunn, L. L. (2021). A Systematic Review of *Listeria* Species and *Listeria monocytogenes* Prevalence, Persistence, and Diversity throughout the Fresh Produce Supply Chain. *Foods*, 10(6), 1427. <https://doi.org/10.3390/foods10061427>
- 52) Ulloa, S., Arata, L., Alarcón, P., Araya, P., Hormazábal, J. C., & Fernández, J. (2019). Caracterización genética de cepas de *Listeria monocytogenes* aisladas durante los años 2007-2014 en Chile. *Revista Chilena de Infectología*, 36(5), 585-590. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182019000500585>
- 53) Vera, A., González, G., Domínguez, M., & Bello, H. (2013). Principales factores de virulencia de *Listeria monocytogenes* y su regulación. *Revista Chilena de Infectología*, 30(4), 407-416. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182013000400010>
- 54) Wang, Z., Tao, X., Liu, S., Zhao, Y., & Yang, X. (2021). An Update Review on *Listeria* Infection in Pregnancy. *Infection and Drug Resistance*, Volume 14, 1967-1978. <https://doi.org/10.2147/IDR.S313675>
- 55) Wei, X., Hassen, A., McWilliams, K., Pietrzen, K., Chung, T., Acevedo, M. M., Chandross-Cohen, T., Dudley, E. G., Vipham, J., Mamo, H., Tessema, T. S., Zewdu, A., & Kovac, J. (2024). Genomic characterization of *Listeria monocytogenes* and *Listeria innocua* isolated from milk and dairy samples in Ethiopia. *BMC Genomic Data*, 25(1), 12. <https://doi.org/10.1186/s12863-024-01195-0>
- 56) Wiktorczyk-Kapischke, N., Skowron, K., & Wałęcka-Zacharska, E. (2023). Genomic and pathogenicity islands of *Listeria monocytogenes*—Overview of selected aspects. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 10, 1161486. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2023.1161486>
- 57) Wiśniewski, P., Zakrzewski, A. J., Zadernowska, A., & Chajęcka-Wierzchowska, W. (2022). Antimicrobial Resistance and Virulence Characterization of *Listeria monocytogenes* Strains Isolated from Food and Food Processing Environments. *Pathogens*, 11(10), 1099. <https://doi.org/10.3390/pathogens11101099>

- 58) Yan, H., Yu, R., Li, D., Shi, L., Schwarz, S., Yao, H., Li, X.-S., & Du, X.-D. (2020). A novel multiresistance gene cluster located on a plasmid-borne transposon in *Listeria monocytogenes*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 75(4), 868-872. <https://doi.org/10.1093/jac/dkz545>

Anexos

Tabla A1. Obtención de los tipos de secuencia (ST) de 62 aislados del Género *Listeria spp.*

Secuencia	(ST)	N°
abcZ (3), blgA1 (1), cat (1), dapE (1), dat (3), ldh (1), lhkA (3)	1	9
abcZ (1), blgA1 (1), cat (11), dapE (11), dat (2), ldh (1), lhkA (5)	2	36
abcZ (3), blgA1 (9), cat (9), dapE (3), dat (3), ldh (1), lhkA (5)	6	1
abcZ (7), blgA1 (1), cat (4), dapE (14), dat (3), ldh (39), lhkA (4)	87	1
abcZ (7), blgA1 (6), cat (8), dapE (8), dat (6), ldh (37), lhkA (1)	121	4
abcZ (1), blgA1 (9), cat (1), dapE (3), dat (7), ldh (5), lhkA (3)	217	1
abcZ (7), blgA1 (49), cat (19), dapE (6), dat (1), ldh (24), lhkA (1)	378	7
abcZ (3), blgA1 (1), cat (1), dapE (329), dat (3), ldh (1), lhkA (3)	1625	1
abcZ (65), blgA1 (62), cat (40), dapE (33), dat (45), ldh (170), lhkA (53)	448	1
abcZ (80), blgA1 (74), cat (85), dapE (99), dat (53), ldh (207), lhkA (69)	542	1

* Los diferentes (ST) corresponden a la especie patógena *L. monocytogenes*, excepto las dos últimas que corresponden a la especie *L. innocua*.

Tabla A2. Estadísticas de la evaluación de la calidad del ensamblaje genómico.

N°	#contigs	Longitud total	N50	%G/C
1	17	3028374	481042	38,87
2	13	2994268	560754	37,91
3	13	2927994	541036	37,96
4	10	2868654	1455330	38,12
5	19	2937350	463309	37,82
6	31	3048748	260918	37,84
7	13	2931430	476470	37,83
8	35	2983288	298845	37,82
9	13	2927840	540927	37,96
10	15	2927844	524915	37,96
11	17	2937003	476359	37,82
12	14	3018767	520874	37,74
13	15	2927484	524622	37,95
14	27	3040079	308239	37,83
15	38	3081031	295240	37,81
16	26	3050959	295241	37,85
17	10	2936337	1496278	37,83
18	36	3114131	331003	37,77
19	35	3005389	560755	38,03
20	20	2959648	521514	37,89
21	57	3130211	331003	37,88
22	40	2954940	476359	37,96
23	66	3012221	295241	37,99
24	44	3076513	423916	37,98
25	48	2941130	308237	38,04
26	80	3049736	295241	38,21
27	38	3052126	261197	37,86
28	39	3089617	295914	37,83
29	27	2961697	521514	37,91
30	159	3148586	308239	38,24
31	32	3057386	254683	37,9
32	71	3037872	407703	38,12
33	70	3060139	296960	37,86

34	72	3080830	367643	38,26
35	66	3085549	295241	38,05
36	26	2998650	331004	37,82
37	326	3308277	308239	38,26
38	47	3087548	295240	37,85
39	85	3050802	308239	38,24
40	21	2955836	521514	37,89
41	59	3043533	331004	37,95
42	30	2965305	521514	37,92
43	94	2985204	513670	37,96
44	17	2949361	476446	37,81
45	63	3020355	296902	38,04
46	15	2901062	500302	37,88
47	25	3048991	331004	37,82
48	44	3027928	295241	37,96
49	68	3123635	331004	38,02
50	636	4904134	24453	37,73
51	53	2985146	124441	37,89
52	39	2991468	295240	37,86
53	28	3051693	331004	37,84
54	72	3092961	261197	38,09
55	35	3089634	237524	37,79
56	45	3093529	295914	37,86
57	45	3011629	260746	37,93
58	38	3004907	521514	37,98
59	65	3017038	261139	38,04
60	22	2933891	476447	37,84
61	43	2993679	295241	37,87
62	26	2884611	509352	37,43
63	29	3064383	423916	37,88
64	61	3044876	308241	38,1
65	67	3090456	331004	38,07
66	39	3052478	295240	37,89
67	33	2993979	386285	37,88
68	60	2919794	461685	37,5

Tabla A3. Diversidad bacteriana de *Listeria spp.* mediante genotipificación.

N°	Tipo de alimento	Especie	Acceso	Linaje	CC	ST
1	Pollo crudo	<i>L.monocytogenes</i>	SRX26785528	I	CC1	1
2	Pollo crudo	<i>L.monocytogenes</i>	SRX26785527	I	CC1	1
3	Ensalada de col morada	<i>L.monocytogenes</i>	SRX26785526	II	CC121	121
4	Rábano, ensalada de tomate Pepinillos, zanahoria, lechuga,	<i>L.monocytogenes</i>	SRX26785525	N.I.	N.I.	N.I.
5	tomate, ensalada de cebolla	<i>L.monocytogenes</i>	SRX26785524	II	CC19	378
6	Carne molida cocida	<i>L.monocytogenes</i>	SRX26785523	I	CC2	2
7	Cebolla picada	<i>L.monocytogenes</i>	SRX26785522	II	CC19	378
8	Salsa de chile picante	<i>L.monocytogenes</i>	SRX26785521	I	CC2	2
9	Salsa de chile picante	<i>L.monocytogenes</i>	SRX26785520	II	CC121	121
10	Salsa de chile picante con maní	<i>L.monocytogenes</i>	SRX26785519	II	CC121	121
11	Salsa de chile picante con semillas	<i>L.monocytogenes</i>	SRX26785518	II	CC19	378
12	Salsa de chile picante	<i>L.monocytogenes</i>	SRX26785517	I	CC1	1
13	Salsa de chile picante con maní	<i>L.monocytogenes</i>	SRX26785516	II	CC121	121
14	Salsa de chile picante con maní	<i>L.monocytogenes</i>	SRX26785515	I	CC2	2
15	Salsa de chile picante con papas y cebollas	<i>L.monocytogenes</i>	SRX26785514	I	CC2	2
16	Ensalada de vainita y tomate	<i>L.monocytogenes</i>	SRX26785513	I	CC2	2
17	Tomate y ensalada de cebolla	<i>L.monocytogenes</i>	SRX26785512	II	CC19	378

18	Ensalada de repollo	<i>L.monocytogenes</i>	SRX26785511	I	CC2	2
19	Ensalada de tomate y cebolla	<i>L.monocytogenes</i>	SRX24963608	I	CC1	1625
20	Tomate y ensalada de cebolla	<i>L.monocytogenes</i>	SRX24963607	N.I.	N.I.	N.I.
	Tomate, cebolla y ensalada de pepinillo	<i>L.monocytogenes</i>	SRX24963606			
21				I	CC2	2
22	Salsa de chile picante	<i>L.monocytogenes</i>	SRX24963605	II	CC19	378
23	Ensalada de lechuga y tomate	<i>L.monocytogenes</i>	SRX24963604	I	CC2	2
	Salsa de chile picante con semillas	<i>L.monocytogenes</i>	SRX24963603			
24				N.I.	N.I.	N.I.
	Salsa de chile picante con cebolla	<i>L.monocytogenes</i>	SRX24963602			
25				I	CC2	2
	Lechuga, tomate y ensalada de zanahoria	<i>L.monocytogenes</i>	SRX24963601			
26				I	CC2	2
27	Mayonesa	<i>L.monocytogenes</i>	SRX24963600	I	CC2	2
28	Ensalada de chile picante	<i>L.monocytogenes</i>	SRX24963599	I	CC2	2
29	Tomate, ensalada de cebolla	<i>L.monocytogenes</i>	SRX24963598	I	CC1	1
	Ensalada de chile picante con maní	<i>L.monocytogenes</i>	SRX24963597			
30				I	CC2	2
31	Cebolla picada	<i>L.monocytogenes</i>	SRX24963596	I	CC2	2
32	Ensalada de chile picante	<i>L.monocytogenes</i>	SRX24963595	I	CC1	1
33	Ensalada	<i>L.monocytogenes</i>	SRX24963594			2
34	Lechuga picada	<i>L.monocytogenes</i>	SRX24963593	I	CC6	6
35	Tomate	<i>L.monocytogenes</i>	SRX24963592	I	CC2	2
	Salsa de chile picante con pepinillos y cebollas	<i>L.monocytogenes</i>	SRX24963591			
36				I	CC2	2
37	Tomate y ensalada de cebolla	<i>L.monocytogenes</i>	SRX24963590	I	CC2	2
38	Tomate y ensalada de cebolla	<i>L.monocytogenes</i>	SRX24963589	I	CC2	2
39	Ensalada	<i>L.monocytogenes</i>	SRX24963588	I	CC2	2
40	Mayonesa	<i>L.monocytogenes</i>	SRX24963587	I	CC1	1
41	Tomate y ensalada de cebolla	<i>L.monocytogenes</i>	SRX24963586	N.I.	N.I.	N.I.
	Ensalada de chile picante con cilantro	<i>L.monocytogenes</i>	SRX24963585			
42				I	CC1	1
43	Tomate y ensalada de cebolla	<i>L.monocytogenes</i>	SRX24963584	I	CC87	87
44	Ensalada de chile picante	<i>L.monocytogenes</i>	SRX24963583	II	CC19	378
45	Remolacha	<i>L.monocytogenes</i>	SRX24963582	I	CC2	2
46	Hielo	<i>L.monocytogenes</i>	SRX24963581	I	CC217	217
47	Tomate y ensalada de cebolla	<i>L.monocytogenes</i>	SRX24963580	I	CC2	2
48	Hielo	<i>L.monocytogenes</i>	SRX24963579	I	CC2	2
	Ensalada de col morada y zanahoria	<i>L.monocytogenes</i>	SRX24963578			
49				I	CC2	2
50	Ensalada de remolacha	<i>L.monocytogenes</i>	SRX24963577	N.I.	N.I.	N.I.
	Ensalada de chile picante con maní	<i>L.monocytogenes</i>	SRX24963576			
51				I	CC2	2
52	Salsa de chile picante	<i>L.monocytogenes</i>	SRX24963575	I	CC2	2
53	Ensalada de chile picante	<i>L.monocytogenes</i>	SRX24963574	I	CC2	2
54	Salsa	<i>L.monocytogenes</i>	SRX24963573	I	CC2	2
55	Ensalada de brocolí y zanahoria	<i>L.monocytogenes</i>	SRX24963572	I	CC2	2
56	Tomate y ensalada de cebolla	<i>L.monocytogenes</i>	SRX24963571	I	CC2	2
57	Mango en rodajas	<i>L.monocytogenes</i>	SRX24963570	I	CC2	2
58	Mayonesa	<i>L.monocytogenes</i>	SRX24963569	I	CC1	1
	Salsa de chile picante con cebolla	<i>L.monocytogenes</i>	SRX24963568			
59				I	CC2	2
60	Salsa de chile picante	<i>L.monocytogenes</i>	SRX24963567	II	CC19	378
61	Salsa	<i>L.monocytogenes</i>	SRX24963566	I	CC2	2
62	Mortadela	<i>L.innocua</i>	SRX24963565	<i>L.innocua</i>	CC448	448
63	Salsa de chile picante	<i>L.monocytogenes</i>	SRX24963564	N.I.	N.I.	N.I.
64	Cebolla picada	<i>L.monocytogenes</i>	SRX24963563	I	CC2	2

65	Embutido	<i>L.monocytogenes</i>	SRX24963562	I	CC2	2
66	Ensalada de tomate y lechuga	<i>L.monocytogenes</i>	SRX24963561	I	CC2	2
67	Lechuga	<i>L.monocytogenes</i>	SRX24963560	I	CC1	1
68	Ensalada de lechuga	<i>L.monocytogenes</i>	SRX24963559	<i>L.innocua</i>	CC542	542
