



**Universidad Autónoma de Querétaro**  
**Facultad de Química**

“Efecto del huella genética y fenotípica de *Salmonella enterica* en el análisis cuantitativo del riesgo de enfermar por el consumo de alimentos en la región centro de México”

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de  
Doctor en Ciencias de los Alimentos

Presenta

M en C. Angélica Godínez Oviedo

Dirigido por:

Dra. Montserrat Hernández Iturriaga

Co-Director:

Dr. John P. Bowman

**Santiago De Querétaro, Querétaro, a 26 de Julio 2021**



Universidad Autónoma de Querétaro  
Facultad de Química  
Doctorado en Ciencias de los Alimentos

“Efecto del huella genética y fenotípica de *Salmonella enterica* en el análisis cuantitativo del riesgo de enfermar por el consumo de alimentos en la región centro de México”

**Tesis**

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de Doctor en Ciencias de los Alimentos

**Presenta:**

M. en C. Angélica Godínez Oviedo

**Dirigido por:**

Dr. Montserrat Hernández Iturriaga

**Co-dirigido por:**

Dr. John P. Bowman

Dr. Montserrat Hernández Iturriaga  
Presidente

Dr. John P. Bowman  
Secretario

Dr. Mark L. Tamplin  
Vocal

Dr. Sofía María Arvizu Medrano  
Suplente

Dr. Rocio Campos Vega  
Suplente

Centro Universitario, Querétaro, Qro.  
Julio 2021  
México



El grado de Doctor en Ciencias de los Alimentos fue obtenido mediante el acuerdo de Doble Titulación con la *University of Tasmania*. El estudiante estuvo inscrito de manera simultánea en la Universidad Autónoma de Querétaro y en la *University of Tasmania* y completó de manera satisfactoria los requerimientos para la obtención del grado en ambas instituciones



“This PhD was awarded within a Dual Award Agreement. The student was jointly enrolled at the University of Tasmania and Universidad Autónoma de Querétaro and successfully completed the degree requirements”

Declaro que los datos propios obtenidos en esta investigación fueron generados durante el desarrollo de mi trabajo de tesis de forma ética y que reporto detalles necesarios para que los resultados de esta tesis sean reproducibles en eventuales investigaciones futuras.

Finalmente, este manuscrito de tesis es un trabajo original en el cual se declaró y dio reconocimiento a cualquier colaboración o cita textual presentadas en el documento.

Parte de la información de la sección “*S. enterica*: Un problema de Salud Pública de México”, así como las secciones de resultados “Evaluación de los hábitos de consumo y prácticas de manipulación de alimentos en el hogar y evaluación de la percepción de la exposición a *S. enterica* de la población del centro del país” y “Estandarización del modelo” se encuentran publicados en las revistas: *Foodborne Pathogens and Disease*, *Journal of Food Science* y *Food Microbiology*, respectivamente.

- Godínez-Oviedo, A., Tamplin, M. L., Bowman, J. P., & Hernández-Iturriaga, M. (2020). Salmonella enterica in Mexico 2000–2017: epidemiology, antimicrobial resistance, and prevalence in food. *Foodborne pathogens and disease*, 17(2), 98-118.
- Godínez-Oviedo, A., Sampedro Parra, F., Machuca Vergara, J. J., Gutiérrez González, P., & Hernández Iturriaga, M. (2019). Food Consumer Behavior and *Salmonella* Exposure Self-Perception in the Central Region of Mexico. *Journal of food science*, 84(10), 2907-2915.
- Godínez-Oviedo, A., Cuellar-Núñez, M. L., Luzardo-Ocampo, I., Campos-Vega, R., & Hernández-Iturriaga, M. (2021). A dynamic and integrated in vitro/ex vivo gastrointestinal model for the evaluation of the probability and severity of infection in humans by *Salmonella* spp. vehiculated in different matrices. *Food Microbiology*, 95, 103671.

## AGRADECIMIENTOS

A mí, por todo el esfuerzo dedicado para cumplir este objetivo en mi vida durante estos cuatro años, que sin duda tuvo de todo, momentos espectaculares como momentos tristes, que me hicieron reafirmar la pasión que le tengo a la Microbiología e Inocuidad de los Alimentos.

A mis padres, Álvaro y Ercilia, y a mi hermana, Nayeli, quienes son los pilares de mi vida, sin ellos su apoyo constante y motivación hubiera sido imposible lograr esta meta. No hay palabras suficientes para demostrar cuan agradecida estoy con ellos.

A la doctora Montserrat sin duda alguna este camino lo recorrimos juntas, le agradezco todo el apoyo recibido durante este tiempo y la motivación que me dio para día a día ser una mejor profesional y persona. Le agradezco su perseverancia para lograr que se firmara el acuerdo de doble titulación con la universidad de Tasmania.

A mis sinodales extranjeros, Dr. Bowman y Dr. Tamplin por todo el apoyo durante este tiempo, y por aceptar ser mi asesor principal y mi co-asesor en la Universidad de Tasmania.

A mis sinodales mexicanas, Dra. Sofia y Dra. Rocio, por su apoyo y por compartirme sus conocimientos.

A todas las personas que colaboraron profesionalmente para la realización de esta tesis: Jessica J. Machuca Vergara, Profesor Porfirio Gutiérrez Gonzalez, Dr. Fernando Sampedro, Dr. Francisco J. Garcés Vega, MSc. Anastacio Palacios Marmolejo, Olga Berenice Covarrubias, Dr. Elisa Cabrera Diaz, Dr. Liceth Cuellar Núñez, Dr. Iván Luzardo Ocampo, M en C. José Eduardo Lucero Mejía, and Claudia Alejandra Pegueros Valencia.

A mis amigos que estuvieron apoyándome día a día, Diana, Jorgelina, Katy, Liz, señora Marta, Ana, Rossana, Montse, Armando, Luis, Maguie, Lalo, Crystabel, Juan Carlos y Bety.

A mis compañeros del laboratorio y a mis niñas del servicio social, Lupita, Rocio y Clau.

A toda mi familia, la cual es muy grande y no acabaría de nombrar, gracias por confiar en mi (tíos, tías, primos, primas, sobrinos).

A la Universidad Autónoma de Querétaro y a la Universidad de Tasmania por el apoyo recibido durante estos cuatro años.

Finalmente agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada para poder realizar mi proyecto doctoral, así como al Fondo para el Fortalecimiento de la Investigación de la Universidad Autónoma de Querétaro (FOFI-UAQ, 2018/FCQ201813) y FORDECYT-PRONACES/64377/2020 del CONACYT por el apoyo financiero para la realización de este proyecto.

## RESUMEN

La evaluación cuantitativa de riesgos microbiológicos (ECRM) determina cuantitativamente el riesgo que representa un patógeno. El objetivo de la tesis fue evaluar la variabilidad intra-especie de la huella genética (HG) y fenotípica (HF) de cepas de *Salmonella* aisladas de alimentos (CA) e incluirla en ECRM de la población del centro de México. Se recolectaron muestras de pollo (354), mango (300) y tomate (272) en Aguascalientes, Jalisco y Querétaro. La prevalencia y concentración de *Salmonella* en pollo (24.9%, -0.61 LogNMP/g) fueron más altas que en mango (1.3%, -1.7 LogNMP/g) y tomate (1.1%, -1.7 LogNMP/g). Se caracterizaron 284 CA y 38 cepas humanas (CH) según su HG (genes de virulencia) y HF (resistencia a antimicrobianos, comportamiento en acidez y formación de biopelículas). Se encontraron siete virulotipos; el virulotipo-2 fue el más abundante. Con respecto a la HF, 54.9% y 26.3% de CA y CH fueron multirresistentes a antibióticos (MRA), y se observó una alta variabilidad en su desarrollo [ $\mu_{pH4}$  (0.003-0.038 OD<sub>600nm</sub>/h),  $\mu_{pH5}$  (0.016 -0.066 OD<sub>600nm</sub>/h), DT<sub>pH4</sub> (13.2-26.3 h), DT<sub>pH5</sub> (6.1-17.3 h)], y formación de biopelículas (0.109-2.08 OD<sub>595nm</sub>). Se integró HG y HF mediante un análisis multifactorial, y con un análisis jerárquico se generaron siete grupos. Entre estos grupos, se seleccionaron 39 CA y 18 CH para evaluar su sobrevivencia en condiciones gástricas; encontrando reducciones de 2.7 a 4.7 LogUFC. Se seleccionaron seis CA para evaluar el efecto de la matriz (pollo, mango, tomate, agua) durante simulación gástrica; los aislamientos vehiculizados en pollo mostraron mayor probabilidad de sobrevivencia. Se evaluó la probabilidad ( $P_{inf}$ ) y la severidad de la infección, y la secuenciación del genoma de las seis cepas. Mediante un análisis de componentes principales se asoció la presencia de genes móviles con una mayor  $P_{inf}$  y daño epitelial. Se creó un modelo base para *Salmonella* en pollo y posteriormente se refinó, mejorando la caracterización del peligro con la inclusión de HG y HF. El modelo refinado estimó 66064 casos, mostrando que cepas de *Salmonella* de alta virulencia/MRA fueron responsables del mayor número de casos (66.6%), a pesar de su baja prevalencia. La inclusión de HG y HF en ECRM generó estimaciones más realistas

**Palabras claves:** *Salmonella*, evaluación cuantitativa del riesgo microbiológico, huella genética, huella fenotípica

## SUMMARY

Quantitative Microbiological Risk Assessment (QMRA) is a tool used to determine the risk of a pathogen quantitatively. This research aimed to evaluate the genotypic print (GP) and phenotypic print (PP) intra-species variability of *Salmonella* food isolates (FI) and include them in a QMRA for the central region of Mexico population. Samples of chicken (354), mango (300), and tomato (272) were collected in Aguascalientes, Jalisco, and Querétaro. The prevalence and concentration of *Salmonella* in chicken (24.9 %, - 0.61 Log MPN/g) were higher than in mango (1.3%, -1.7 Log NMP/g) and tomato (1.1%, -1.7 Log NMP/g). A total of 284 FI and 38 human isolates (HI) were characterized according to GP (virulence genes) and PP (antimicrobial resistance, behavior at acid conditions, and biofilm-forming). Seven virulotypes were found; virulotype-2 was the most abundant. Regarding PP, 54.9% and 26.3% of FI and HI were multidrug-resistant (MDR), and it was observed had high variability for the ability to grow under acidic conditions [ $\mu_{pH4}$  (0.003-0.038 OD<sub>600nm/h</sub>),  $\mu_{pH5}$  (0.016-0.066 OD<sub>600nm/h</sub>), DT<sub>pH4</sub> (13.2-26.3 h), DT<sub>pH5</sub> (6.1-17.3 h)], and for biofilm formation (0.109-2.08 OD<sub>595nm</sub>). Multifactorial analysis of GP and PP characteristics and hierarchical analysis was used to group the isolates into seven clusters. Among these clusters, 39 FI and 18 HI were selected to evaluate their survival under gastric conditions; populations were reduced from 2.7 to 4.7 Log CFU. Six FI were selected to evaluate the effect of foods (chicken, mango, tomato, water) on survival during gastric simulation; the isolates vehiculized in chicken showed the highest survival probability. The probability ( $P_{inf}$ ) and severity of the infection of the six strains also were evaluated using a gastrointestinal model. These data were linked to their whole-genome sequencing using a principal component analysis; mobile genetic elements were associated with higher  $P_{inf}$  and epithelial integrity damage. A baseline QMRA for *Salmonella* in chicken was created, and a refinement was performed, improving the hazard characterization with the GP and PP. The refined model estimated 66064 cases, showing that high-virulent/MDR *Salmonella* strains were responsible for most cases (66.6%), despite their low prevalence. The inclusion of GP and PP in QMRA generated more realistic estimations.

**Keywords:** *Salmonella*, quantitative microbiological risk assessment, genetic print, phenotypic print

# ÍNDICE

RESUMEN.....	vi
SUMMARY.....	viii
ÍNDICE.....	viii
ÍNDICE DE TABLAS.....	xiii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xvii
1 INTRODUCCIÓN.....	1
2 ANTECEDENTES.....	3
2.1 Análisis de riesgos microbiológicos.....	3
2.1.1 Evaluación de riesgos.....	4
2.2 Evaluación de riesgos de <i>S. enterica</i> .....	7
2.2.1 Identificación del peligro.....	7
2.2.1.1 <i>S. enterica</i> : Características generales.....	8
2.2.1.2 <i>S. enterica</i> : Un problema de salud en México.....	10
2.2.2 Caracterización del peligro.....	13
2.2.2.1 Mecanismo de infección de <i>S. enterica</i> no tifoidea.....	14
2.2.2.2 Patogenicidad de <i>S. enterica</i> .....	15
2.2.2.3 Interacción de <i>S. enterica</i> con el huésped.....	18
2.2.2.4 Factores que afectan la virulencia de cepas de <i>S. enterica</i> .....	22
2.2.2.5 Modelos dosis respuesta de <i>S. enterica</i> .....	23
2.2.3 Evaluación de la exposición.....	25
2.2.3.1 Prevalencia y concentración de <i>S. enterica</i> en alimentos.....	25
2.2.3.2 Comportamiento de <i>S. enterica</i> en el hogar asociado a los patrones de preparación y consumo.....	29
2.2.4 Caracterización del riesgo.....	34
3 JUSTIFICACIÓN.....	36
4 HIPÓTESIS.....	37
5 OBJETIVOS.....	38

5.1	Objetivo general.....	38
5.2	Objetivo específico.....	38
6	METODOLOGÍA.....	39
6.1	Evaluación de los hábitos de consumo y prácticas de manipulación de alimentos en el hogar y evaluación de la percepción de exposición a <i>S. enterica</i> de la población del centro del país.....	39
6.1.1	Diseño de la encuesta.....	39
6.1.2	Análisis estadísticos.....	40
6.2	Priorización del riesgo de grupos de alimentos asociados <i>S. enterica</i> en el centro de México.....	40
6.2.1	Criterio 1: probabilidad de la exposición de <i>S. enterica</i> en el hogar a través del consumo de alimentos ( <i>Pe</i> ).....	40
6.2.2	Criterio 2: potencial de desarrollo de <i>S. enterica</i> durante el almacenamiento en el hogar ( <i>Pd</i> ).....	46
6.2.3	Criterio 3: Consumo <i>per cápita</i> .....	47
6.2.4	Criterio 4: Probabilidad de que <i>S. enterica</i> cause un brote por un alimento.....	47
6.2.5	Estimación del puntaje final.....	48
6.3	Detección y cuantificación de <i>S. enterica</i> de jitomate, mango y pollo comprado en puntos de venta en el centro de México.....	49
6.3.1	Análisis estadístico.....	51
6.4	Caracterización de la huella genotípica y fenotípica de cepas de <i>S. enterica</i> aisladas de jitomate, mango y pollo.....	52
6.4.1	Virulotipificación.....	52
6.4.2	Resistencia a antimicrobianos.....	55
6.4.3	Evaluación del comportamiento de <i>S. enterica</i> a condiciones acidas.....	55
6.4.4	Evaluación de la formación de biopelículas.....	57
6.4.5	Análisis estadísticos.....	58
6.4.6	Integración de la información de la huella genotípica y huella fenotípica para la selección de cepas.....	58

6.5	Evaluación de la variabilidad intra-especie en la probabilidad y severidad de la infección de <i>S. enterica</i> en humanos vehiculizada en diferentes matrices .....	58
6.5.1	Evaluación de la variabilidad intra-especie en sobrevivencia de <i>S. enterica</i> en condiciones gástricas .....	58
6.5.2	Reagrupación de las cepas de <i>S. enterica</i> .....	59
6.5.3	Evaluación del efecto de la matriz alimentaria en la sobrevivencia de cepas de <i>S. enterica</i> en condiciones gástricas .....	60
6.5.4	Evaluación de la variabilidad intra-especie en la probabilidad y severidad de la infección de <i>S. enterica</i> .....	61
6.5.4.1	Estimación de la probabilidad de infectar de <i>S. enterica</i> .....	62
6.5.4.2	Evaluación del daño .....	62
6.5.5	Análisis estadístico .....	62
6.6	Análisis de la secuenciación del genoma completo (SGC).....	63
6.6.1	Extracción de ADN .....	63
6.6.2	SGC.....	63
6.6.2.1	Análisis del pan-genoma .....	63
6.6.2.2	Serotipificación, tipificación multilocus de secuencias (MLST), y detección de genes de virulencia y resistencia a antibióticos.....	64
6.6.3	Integración de la SGC y la virulencia de <i>S. enterica</i> .....	64
6.7	Evaluación cuantitativa del riesgo de <i>S. enterica</i> por el consumo de pollo en la región centro de México .....	65
6.7.1	Escenarios de exposición .....	69
6.7.1.1	Punto de venta.....	69
6.7.1.2	Transporte por el consumidor .....	71
6.7.1.3	Almacenamiento en el hogar .....	71
6.7.1.4	Cocinado. ....	72
6.7.1.5	Manejo después de la cocción .....	72
6.7.1.6	Consumo. ....	79
6.7.2	Análisis de sensibilidad.....	79

6.8 Refinamiento de la evaluación cuantitativa del riesgo de <i>S. enterica</i> por el consumo de pollo en la región centro de México .....	79
7 RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	83
7.1 Evaluación de los hábitos de consumo y prácticas de manipulación de alimentos en el hogar y evaluación de la percepción de exposición a <i>S. enterica</i> de la población del centro del país .....	83
7.2 Priorización del riesgo de grupos de alimentos asociados a <i>S. enterica</i> en el centro de México .....	99
7.3 Prevalencia y concentración de <i>S. enterica</i> en alimentos seleccionados.....	110
7.4 Caracterización de la huella genotípica y fenotípica de las cepas de <i>S. enterica</i> aisladas de alimentos .....	114
7.4.1 Caracterización de la huella genotípica de las cepas de <i>S. enterica</i> aisladas de alimentos.....	115
7.4.2 Caracterización de la huella fenotípica de las cepas de <i>S. enterica</i> aisladas de alimentos.....	117
7.4.2.1 Resistencia a antimicrobianos.....	117
7.4.2.2 Evaluación del comportamiento de <i>S. enterica</i> a condiciones ácidas...	120
7.4.2.3 Formación de biopelículas de <i>S. enterica</i> .....	126
7.5 Integración de la huella genética y fenotípica de las cepas de <i>S. enterica</i> aisladas de los alimentos y de casos clínicos .....	132
7.6 Efecto de la variabilidad intra-especie de cepas de <i>S. enterica</i> durante la simulación gástrica.....	134
7.7 Efecto de la matriz alimentaria sobre la sobrevivencia de <i>S. enterica</i> en condiciones gástricas .....	138
7.8 Estimación de la probabilidad y severidad de la infección de <i>S. enterica</i> ..	143
7.8.1 Estandarización del modelo.....	143
7.8.2 Evaluación de la variedad intra-especie de <i>S. enterica</i> durante la simulación gastrointestinal.....	146
7.9 Análisis de la secuenciación completa del genoma.....	150

7.10	Integración de la capacidad de virulencia y el genoma de las seis cepas de <i>S. enterica</i> .....	155
7.11	Modelo base del riesgo de enfermar de salmonelosis por el consumo de pollo preparado en el hogar en la región centro de México.....	157
7.12	Refinamiento del modelo base del riesgo de enfermar de salmonelosis por el consumo de pollo preparado en el hogar en la región centro de México .....	161
8	CONCLUSIONES .....	168
9	LITERATURA CITADA .....	170
10	APÉNDICES.....	225
10.1	Apéndice 1: Encuesta.....	225
10.2	Apéndice 2. Información utilizada para generar modelos secundarios de desarrollo.....	232
10.3	Apéndice 3. Peso de la porción .....	233
10.4	Apéndice 4. Frecuencia de consume de pollo .....	233
10.5	Apéndice 5. Frecuencia de consume de pollo a la semana por porción .....	234

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Características de las diferentes enfermedades causadas por <i>S. enterica</i> en el mundo. ....	9
<b>Tabla 2.</b> Resistencia a antibióticos de cepas de <i>S. enterica</i> aisladas de casos clínicos y de alimentos. ....	12
<b>Tabla 3.</b> Principales genes de virulencia de <i>S. enterica</i> . ....	17
<b>Tabla 4.</b> Modelos dosis respuestas para <i>S. enterica</i> . ....	23
<b>Tabla 5.</b> Prevalencia de <i>S. enterica</i> en diferentes alimentos colectados en México. ....	26
<b>Tabla 6.</b> Modelos predictivos secundarios del desarrollo de <i>S. enterica</i> en diferentes alimentos. ....	30
<b>Tabla 7.</b> Tasas de transferencia de <i>S. enterica</i> entre alimentos y superficies .....32	32
<b>Tabla 8.</b> Evaluación cuantitativa del riesgo de enfermar por <i>S. enterica</i> .....34	34
<b>Tabla 9.</b> Prevalencia de <i>S. enterica</i> por en cada alimento. ....41	41
<b>Tabla 10.</b> Estimación de la probabilidad de que cada escenario ocurra.....43	43
<b>Tabla 11.</b> Parámetros empleados para evaluar la probabilidad de exposición a <i>S. enterica</i> en el hogar. ....44	44
<b>Tabla 12.</b> Valores y valores normalizados de cada criterio. ....48	48
<b>Tabla 13.</b> Peso de cada criterio asignado por un panel en Inocuidad Alimentaria.48	48
<b>Tabla 14.</b> Iniciadores para la detección de genes de virulencia de <i>S. enterica</i> . ....53	53
<b>Tabla 15.</b> Condiciones de la mezcla de reacción y de los PCR múltiples para la detección de genes de virulencia.....54	54
<b>Tabla 16.</b> Niveles de los parámetros empleados para estimar el desarrollo global de los aislados de <i>S. enterica</i> . ....56	56
<b>Tabla 17.</b> Parámetros empleados para determinar la frecuencia de cada escenario .....68	68
<b>Tabla 18.</b> Frecuencia de que cada escenario ocurra.....69	69
<b>Tabla 19.</b> Parámetros para calcular el punto de venta .....70	70
<b>Tabla 20.</b> Parámetros calcular el transporte por el consumidor.....73	73

<b>Tabla 21.</b> Parámetros para la evaluación de almacenamiento en el hogar .....	75
<b>Tabla 22.</b> Parámetros para la evaluación de la cocción .....	76
<b>Tabla 23.</b> Parámetros para la evaluación del manejo después de la cocción .....	77
<b>Tabla 24.</b> Parámetros para la evaluación del consumo .....	79
<b>Tabla 25.</b> Modelos dosis-respuesta para los diferentes niveles de virulencia de <i>S. enterica</i> .....	81
<b>Tabla 26.</b> Parámetros para la evaluación de los AVD .....	81
<b>Tabla 27.</b> Forma de compra de la carne fresca en México.....	85
<b>Tabla 28.</b> Forma de consumo de la carne fresca. ....	85
<b>Tabla 29.</b> Forma de consumo de los productos cárnicos procesados.....	86
<b>Tabla 30.</b> Forma de compra de pescados y mariscos.....	87
<b>Tabla 31.</b> Forma de consumo de pescados y mariscos. ....	87
<b>Tabla 32.</b> Prácticas de manipulación de alimentos en el hogar.....	95
<b>Tabla 33.</b> Asociación de las prácticas de manipulación de alimentos en el hogar entre el sexo y la edad.....	96
<b>Tabla 34.</b> Asociación entre la autopercepción de padecer ETAs y salmonelosis con las características demográficas.....	98
<b>Tabla 35.</b> Parámetros estimados para modelos secundarios del desarrollo de <i>S. enterica</i> .....	101
<b>Tabla 36.</b> Comparación del consumo <i>per cápita</i> obtenido mediante la encuesta y el reportado en México estimado mediante la producción en el país. ....	105
<b>Tabla 37.</b> Probabilidad de que <i>S. enterica</i> cause un brote por el consumo de un alimento en específico. ....	107
<b>Tabla 38.</b> Prevalencia de <i>S. enterica</i> en mango, jitomate y pollo crudo en la región centro de México.....	110
<b>Tabla 39.</b> Prevalencia de <i>S. enterica</i> en muestras de mango, tomate y pollo crudo compradas en establecimientos minoristas de la región central de México, según el lugar de muestreo, la temporada y el tipo de establecimiento minorista.....	112
<b>Tabla 40.</b> Prevalencia de los virulotipos de <i>S. enterica</i> en mango, jitomate y pollo. ....	117

<b>Tabla 41.</b> Prevalencia de <i>S. enterica</i> resistente a diferentes antibióticos en jitomate, mango y pollo.....	120
<b>Tabla 42.</b> Bondad de los modelos de Baranyi y Roberts, Gompertz y Scale Free. ....	121
<b>Tabla 43.</b> Efecto del origen, periodo, virulotipo y MRA de cepas de <i>S. enterica</i> en su desarrollo a condiciones ácidas. ....	123
<b>Tabla 44.</b> Rangos del TD y $\mu$ para clasificar las cepas en lentas, moderadas o rápidas, empleando las cepas aisladas en Querétaro y la frecuencia de los aislamientos de <i>S. enterica</i> en cada nivel.....	124
<b>Tabla 45.</b> Clasificación del desarrollo global de <i>S. enterica</i> en condiciones ácidas. ....	126
<b>Tabla 46.</b> Efecto del origen, virulotipo, MRA, y tiempo de incubación sobre la habilidad de formación de biopelículas de cepas de <i>S. enterica</i> .....	130
<b>Tabla 47.</b> Clasificación de la formación de biopelículas de <i>S. enterica</i> a través del tiempo. ....	131
<b>Tabla 48.</b> Clasificación de la persistencia de <i>S. enterica</i> de acuerdo con su formación de biopelículas a través del tiempo. ....	131
<b>Tabla 49.</b> Efecto del origen, virulotipos, MRA y los agrupamientos sobre la reducción de cepas de <i>S. enterica</i> durante la simulación gástrica .....	136
<b>Tabla 50.</b> Cepas de <i>S. enterica</i> seleccionadas.....	137
<b>Tabla 51.</b> Parámetros de inactivación de cepas de <i>S. enterica</i> en cuatro matrices alimentarias diferentes durante la simulación gástrica.....	141
<b>Tabla 52.</b> Probabilidad de <i>S. enterica</i> de sobrevivir a las condiciones gástricas cuando es vehiculizada en cuatro matrices alimentarias. ....	142
<b>Tabla 53.</b> Cambios en la población de <i>S. Typhimurium</i> durante la simulación gastrointestinal.....	144
<b>Tabla 54.</b> Población de las seis cepas de <i>S. enterica</i> durante el modelo in vitro/ex vivo gastrointestinal .....	147
<b>Tabla 55.</b> Reducción gástrica, $R_{AD/LI}$ , $R_{IN/AD}$ , and $P_{inf}$ de seis cepas de <i>S. enterica</i> .....	148

<b>Tabla 56.</b> Probabilidad de enfermedad por porción en una sola exposición y número de casos por cada escenario .....	158
<b>Tabla 57.</b> Prevalencia de <i>S. enterica</i> en pollo crudo fraccionada en los seis grupos .....	163
<b>Tabla 58.</b> Probabilidad de enfermedad por porción en una exposición por <i>S. enterica</i> de baja, moderada y alta virulenta .....	165
<b>Tabla 59.</b> Número de casos de salmonelosis por consumo de pollo en piezas o en filete en la región centro de México según los seis diferentes grupos de cepas presentes en el alimento.....	166
<b>Tabla 60.</b> Años de vividos con la discapacidad (diarrea) provocada por el consumo de pollo contaminado con diferentes grupos de <i>S. enterica</i> en la región centro de México .....	167

Dirección General de Bibliotecas UNQ

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Modelo dosis respuesta ajustado empleando información epidemiológica y de estudios con animales.....	5
<b>Figura 2.</b> Comportamiento de la concentración del patógeno de acuerdo con las prácticas de manipulación de alimentos .....	6
<b>Figura 3.</b> Ejemplo de la simulación de Monte Carlo .....	7
<b>Figura 4.</b> Distribución geográfica de la tasa de incidencia de casos clínicos ocasionados por <i>S. enterica</i> en México. A) NTS (periodo 2014- 2017), B) <i>S. Typhi</i> (periodo 2000- 2017), C) <i>S. Paratyphi A</i> (periodo 2014 – 2017) .....	11
<b>Figura 5.</b> Posibles resultados de la exposición a <i>S. enterica</i> .....	13
<b>Figura 6.</b> Mecanismo de Infección de <i>S. enterica</i> no tifoidea.....	15
<b>Figura 7.</b> Localización de genes de virulencia en el cromosoma de <i>Salmonella</i> ..	15
<b>Figura 8.</b> Mecanismos de respuesta de <i>S. enterica</i> durante su paso por el estómago.....	18
<b>Figura 9.</b> Sistema de secreción tipo tres codificado por la SPI-1 .....	19
<b>Figura 10.</b> Mecanismo de invasividad de <i>S. enterica</i> a las células epiteliales. ....	20
<b>Figura 11.</b> Biogénesis de <i>S. enterica</i> en SCV.....	22
<b>Figura 12.</b> Escenarios de evaluación de la exposición de <i>S. enterica</i> en pollo desde el punto de venta hasta el consumo cuando se compra crudo en tiendas de pollos, tianguis o mercados.....	66
<b>Figura 13.</b> Escenarios de evaluación de la exposición de <i>S. enterica</i> en pollo desde el punto de venta hasta el consumo cuando se compra crudo en mini supers y supermercado .....	67
<b>Figura 14.</b> Distribución de la frecuencia de consumo de los diversos grupos de alimentos .....	88
<b>Figura 15.</b> Distribución de las porciones de consumo de los diversos grupos de alimentos. ....	89
<b>Figura 16.</b> Consumo <i>per cápita</i> de diferentes alimentos en el centro del país .....	90
<b>Figura 17.</b> Forma de almacenamiento de los diversos grupos de alimentos en el hogar.....	92

<b>Figura 18.</b> Tiempo de almacenamiento en refrigeración de los diversos grupos de alimentos. ....	93
<b>Figura 19.</b> Probabilidad de exposición ( <i>Pe</i> ) a <i>S. enterica</i> en el hogar.....	100
<b>Figura 20.</b> Potencial de desarrollo ( <i>Pd</i> ) de <i>S. enterica</i> en los diferentes alimentos. ....	103
<b>Figura 21.</b> Puntaje final de la priorización de los alimentos asociados a <i>S. enterica</i> . ....	108
<b>Figura 22.</b> Concentración de <i>S. enterica</i> en jitomate, mango y pollo.....	114
<b>Figura 23.</b> Distribución de las cepas de <i>S. enterica</i> de acuerdo con su virulotipo. ....	116
<b>Figura 24.</b> Porcentaje de cepas de <i>S. enterica</i> aisladas de jitomate, mango y pollo resistentes a distintos antibióticos.....	118
<b>Figura 25.</b> Tiempo de detección (TD) y velocidad de desarrollo ( $\mu$ ) a pH 5 y pH 4 de cepas de <i>S. enterica</i> . ....	122
<b>Figura 26.</b> Cinéticas de desarrollo de diferentes cepas de <i>S. enterica</i> a condiciones ácidas. ....	125
<b>Figura 27.</b> Formación de biopelículas de cepas de <i>S. enterica</i> a través del tiempo. ....	127
<b>Figura 28.</b> Agrupación de las cepas de <i>S. enterica</i> de acuerdo con el análisis de factores múltiples y análisis jerárquico .....	132
<b>Figura 29.</b> Distribución de los virulotipos en los diferentes grupos.....	133
<b>Figura 30.</b> Reducción de cepas de <i>S. enterica</i> aisladas de alimentos y casos clínicos durante la simulación gástrica.....	136
<b>Figura 31.</b> Comportamiento de las cepas de <i>S. enterica</i> vehiculizados en diferentes matrices durante la simulación gástrica. ....	139
<b>Figura 32.</b> Evaluación del impacto de <i>S. Typhimurium</i> en el daño tisular. ....	145
<b>Figura 33.</b> Imágenes representativas de tejido de íleon de ratas Wistar teñidas con hematoxilina y eosina (H&E) cuando fueron expuestas a diferentes cepas de <i>S. enterica</i> durante la simulación de fase intestinal.....	149
<b>Figura 34.</b> Evaluación del daño tisular de seis cepas de <i>S. enterica</i> . ....	150

<b>Figura 35.</b> Análisis del genoma completo de seis cepas de <i>S. enterica</i> .....	154
<b>Figura 36.</b> Análisis de componentes principales para la integración del análisis de genoma y la capacidad de virulencia de cepas de <i>S. enterica</i> .....	156
<b>Figura 37.</b> Top 5 de las entradas con mayor influencia en la variabilidad de la probabilidad de enfermedades.....	162

Dirección General de Bibliotecas UAG

## 1 INTRODUCCIÓN

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs) son un problema de salud pública a nivel mundial. *Salmonella enterica* es un patógeno al cual se le han atribuido un gran número de casos de enfermedad y brotes en diversos países. En México, a pesar de que existe un seguimiento epidemiológico de casos por salmonelosis, hay una falta de información sobre la asociación entre *S. enterica* y el consumo de alimentos, lo que complica el desarrollo de medidas preventivas y correctivas eficaces. Para priorizar esfuerzos es fundamental generar información que permita conocer cuáles son los alimentos con mayor probabilidad de vehicular a *S. enterica* en México.

En los países desarrollados la predicción realista del riesgo de enfermar de una población ante el consumo de un alimento contaminado se realiza evaluando la interacción dinámica de la triada huésped-patógeno-alimento cuyas respuestas se modelan matemáticamente para llevar a cabo la evaluación del riesgo, parte científica del Análisis de Riesgos Microbiológicos (ARM). La evaluación cuantitativa de riesgo microbiológicos (ECRM) es un proceso que está compuesto por cuatro fases: la identificación del peligro, la caracterización del peligro, la evaluación de la exposición y caracterización del riesgo. Este proceso que día a día debe irse perfeccionando con la finalidad de generar estimaciones del riesgo más realistas.

La variabilidad intra-especie puede ser atribuida a diferentes factores como, como la huella genotípica (HG) y la huella fenotípica (HF) de los microorganismos. La HG se define como el perfil genético que caracteriza a una bacteria, mientras que la HF se refiere a las características morfológicas, fisiológicas, metabólicas y de comportamiento, que resulta de la expresión de genes ante la exposición a factores ambientales. Uno de los mayores retos de la evaluación cuantitativa del riesgo de nueva generación es la inclusión de la variabilidad intra-especie, ya que la falta de esta información genera incertidumbre en las estimaciones del riesgo (Cocolin *et al.*, 2018; den Besten *et al.*, 2018; Haddad *et al.*, 2018). Hasta ahora en ninguno de estos estudios se ha tomado en cuenta la variabilidad de la HG y HF de *S. enterica* sobre el riesgo de enfermar.

Dado lo anterior en este proyecto se planteó generar una ECRM para predecir el riesgo de enfermar de salmonelosis en la región del centro de México por el consumo de un alimento, en el cual además de incluir factores como edad, hábitos de consumo y manipulación de alimentos de la población se incorporó la variabilidad intra-especie de las cepas aisladas de los alimentos en estudio.

Dirección General de Bibliotecas UAQ

## 2 ANTECEDENTES

### 2.1 Análisis de riesgos microbiológicos

El consumo de alimentos es vital para los seres vivos, por lo cual es importante asegurar su inocuidad para proteger la salud pública, y promover el desarrollo económico (FAO/WHO, 2006). La globalización en la producción y abastecimiento de alimentos, el comercio internacional, el uso de nuevas tecnologías, así como la demanda de los consumidores por productos inocuos ha llevado a buscar diferentes estrategias que permitan reducir el riesgo del consumo de productos no seguros (Chen, Danyluk, & Schaffner, 2012). Una de las estrategias más empleadas es ARM. El riesgo es definido como la función de la probabilidad de que un efecto adverso a la salud pase y la gravedad de este efecto en consecuencia a uno o más peligros presentes en los alimentos.

El ARM está compuesto por tres componentes (Chen *et al.*, 2012):

1. Evaluación del riesgo. Proceso sistemático y científico que consiste en evaluar el riesgo potencial.
2. Gestión del riesgo. Proceso no científico que finalidad implementar estrategias para reducir el riesgo identificado.
3. Comunicación del riesgo. Proceso en el cual hay un intercambio de información sobre el riesgo entre las partes (evaluador, gestor, población).

EL AMR está diseñado principalmente para ayudar a que las instituciones gubernamentales establezcan prioridades en los sistemas de control de la inocuidad y gestión de recursos, definan apropiadamente los niveles de protección para cada patógeno en los diferentes tipos de alimentos y establezcan guías específicas para asegurar la ausencia de estos microorganismos en los diferentes alimentos. Este sistema también puede ser empleado por industrias alimentarias para evaluar el efecto de los procesos de producción sobre los riesgos microbiológicos y proponer mejoras en sus sistemas de control (Forsythe, 2002).

### 2.1.1 Evaluación del riesgo

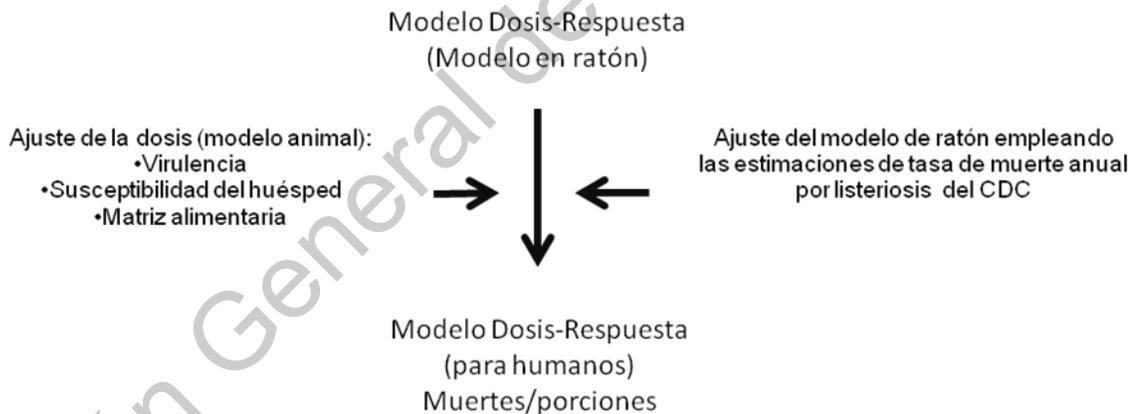
La evaluación del riesgo es la parte científica y medular del análisis de riesgos, en la cual se obtienen resultados de carácter cualitativo, semicuantitativo o cuantitativo de la probabilidad de enfermar por un patógeno y alimento en particular. La evaluación del riesgo está conformada por cuatro fases:

1. Identificación del peligro: En esta fase el peligro (agente microbiano) en cuestión y sus efectos adversos se identifican y se definen en un contexto de información epidemiológica, clínica, microbiológica y ambiental c
2. Caracterización del peligro: Esta etapa se enfoca en determinar el mecanismo de interacción del agente etiológico con el huésped, su patogenicidad, su nivel de virulencia y la dosis respuesta. La interacción entre el patógeno, el huésped y el medioambiente es la clave para determinar el impacto a la salud.

La dosis respuesta se define como la relación de la probabilidad de que un efecto adverso a la salud (infección, enfermedad o muerte) ocurra en un individuo o población cuando está expuesta a una dosis específica del patógeno. Para estimar dicha probabilidad, se emplean modelos matemáticos en función de diversos factores como las rutas y medios de exposición, el huésped y el patógeno (USDA/FSIS & USEPA, 2012; Zelner, King, Moe, & Eisenberg, 2010).

El diseño de modelos dosis respuesta, puede ser obtenida mediante el estudio con voluntarios, datos epidemiológicos y/o datos de animales. Cada uno de ellos tiene ventajas y desventajas. Los modelos realizados a partir de datos de voluntarios son los más fiables. Sin embargo, por razones éticas estos estudios cada vez son menos empleados. Una de las desventajas en este tipo de modelos es que en la mayoría de los casos, los voluntarios que participan cuentan con un excelente estado inmunológico, y las cepas bacterianas empleadas son de baja virulencia, para no desencadenar enfermedades más serias que una diarrea, mostrando escenarios limitados (USDA/FSIS & USEPA, 2012). A pesar de que los datos obtenidos de humanos son preferibles que los datos de animales, el uso de información

obtenida mediante estudios con animales e *in vitro* pueden proveer información valiosa de la interacción patógeno y hospedero, lo que permite evaluar factores como la susceptibilidad del huésped y la variabilidad en la virulencia de las cepas (FAO/WHO, 2003). El ajuste de modelos conjuntando las diferentes formas de obtener información pueden generar modelos más realistas. Ejemplo de ello se puede observar en el estudio realizado por la FDA y USDA “Evaluación cuantitativa del riesgo relativo para la salud pública de *Listeria monocytogenes* en algunos alimentos listos para consumo” (FDA/USDA, 2003), estudio que se integró en el modelo dosis respuesta el nivel de virulencia de diferentes cepas aisladas de *Listeria monocytogenes*. A partir de un modelo dosis respuesta de ratón, ajustaron los parámetros de virulencia, susceptibilidad del huésped y efecto de la matriz alimentaria empleando modelos animales; más tarde el modelo también fue ajustado empleando la tasa anual de muerte por listeriosis del CDC (Figura 1).

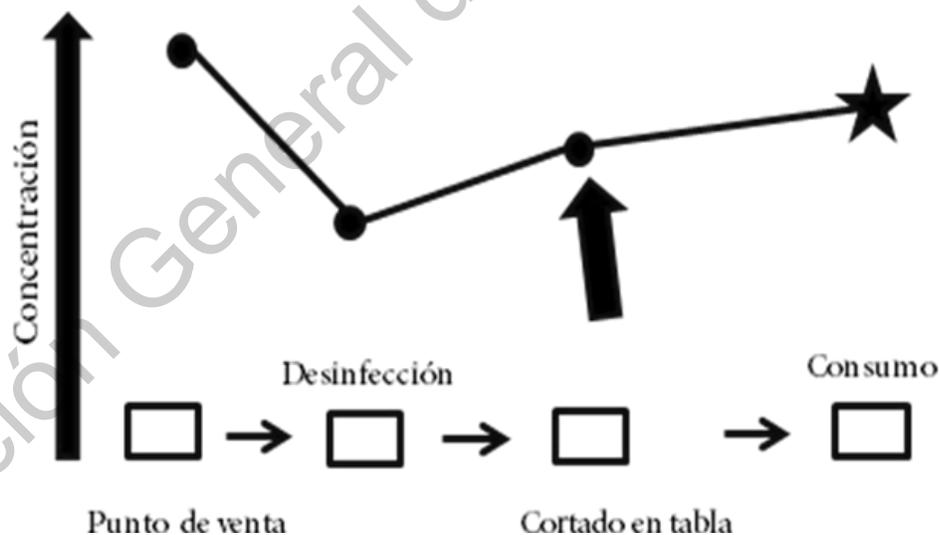


**Figura 1.** Modelo dosis respuesta ajustado empleando información epidemiológica y de estudios con animales (FDA/USDA, 2003).

### 3. Evaluación de la exposición

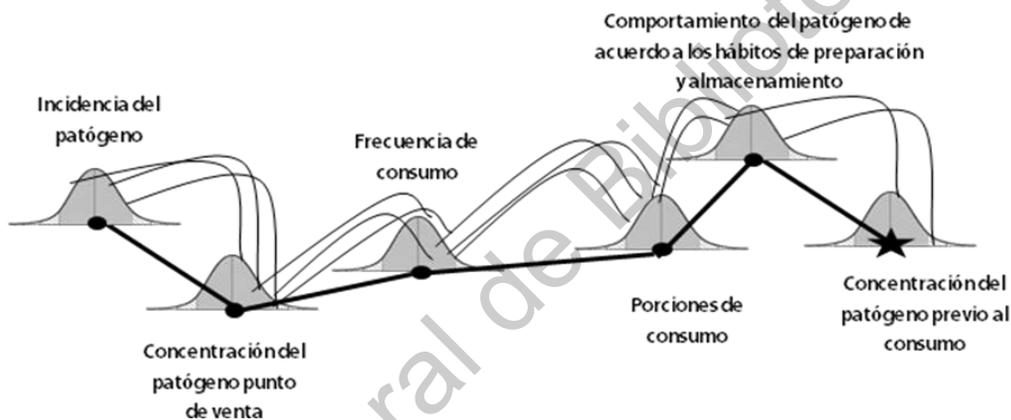
En esta fase se determina la ruta, frecuencia, duración y magnitud de la exposición de un determinado microorganismo en la población. Los microorganismos pueden venir de más de una fuente, ser transmitidos por diversas rutas de exposición y diseminarse por malas prácticas de higiene del manipulador. En este punto es importante tomar en cuenta los

mecanismos de contaminación cruzada, los nichos ecológicos, los gradientes de concentración, la persistencia y las características de las matrices donde se puede encontrar presente el microorganismo (Nauta, 2016). La predicción de cambios en el número de microorganismos a lo largo de las diferentes vías es necesaria para estimar la dosis de exposición, tomando en cuenta los factores ambientales ya que estos pueden influir en el crecimiento o muerte de los microorganismos (FDA/USDA, 2003). Los escenarios de exposición describen una serie de condiciones y suposiciones sobre la fuente, mecanismo de exposición, hábitos de consumo y manipulación de alimentos que repercuten en la concentración del patógeno en el alimento (Figura 2). Hasta ahora la mayoría de los modelos predictivos empleados para predecir el comportamiento del patógeno ante diversas situaciones no toman en cuenta la variabilidad intra-especie por lo cual se genera un sesgo ya que se llegan a tomar decisiones con base al comportamiento únicamente de ciertas cepas (Juneja, Marks, & Huang, 2003).



**Figura 2.** Comportamiento de la concentración del patógeno de acuerdo con las prácticas de manipulación de alimentos. Creación con información de USDA/FSIS & USEPA, 2012.

Para integrar la información para estimar la probabilidad se utiliza principalmente el análisis de Monte Carlo (USDA/FSIS & USEPA, 2012) (Figura 3). El análisis de Monte Carlo es un técnica que tiene como finalidad realizar un muestreo aleatorio de cada una de las distribuciones de la probabilidad de las variables empleadas en un modelo (ej. prevalencia del patógeno, concentración del patógeno, frecuencia de contaminación cruzada, desarrollo del patógeno a determinadas condiciones, inactivación del patógeno ante determinadas condiciones, etc.) para estimar la probabilidad de los posibles resultados (Vose, 2008).



**Figura 3.** Ejemplo de la simulación de Monte Carlo. Creación con información de USDA/FSIS & USEPA, 2012.

#### 4. Caracterización del riesgo

Este es el paso final de la evaluación de riesgos, en el cual todos los datos y los análisis obtenidos previamente, son combinados para estimar el riesgo potencial de enfermar por el patógeno en cuestión bajo condiciones específicas.

## 2.2 Evaluación de riesgos de *S. enterica*

### 2.2.1 Identificación del peligro

*S. enterica* no tifoidea (NTS) y *S. enterica* serotipo Typhi son de los patógenos transmitidos por alimentos que se encuentran en los primeros lugares de

causa de enfermedades y muertes a nivel mundial (WHO, 2015). Se ha estimado que NTS causa alrededor de 93.8 millones de enfermedades anualmente a nivel mundial, de los cuales se estima que el 85.6% se debe al consumo de alimentos (Majowicz *et al.*, 2010). Mientras que en Latinoamérica y el Caribe se estiman más de 7 millones de casos de NTS al año (WHO, 2015).

#### **2.2.1.1 S. enterica: Características generales**

*Salmonella* es el género de un microorganismo que pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*, su nombre se dio en honor al doctor Salmon, codescubridor del germen (Fernández, 2008); son bacilos Gram negativos no esporulados, anaerobios facultativos, catalasa-positivo, oxidasa-negativo y la mayoría son móviles por la presencia de flagelos peritricos. Existen dos especies *S. bongori* y *S. enterica* siendo esta última la que se ha relacionado con cuadros de enfermedad tanto en humanos como animales (Faura *et al.*, 2002). *S. enterica* se clasifica en 6 subespecies: I (enterica), II (salamae), IIIa (arizonae), IIIb (diarizonae), IV (houtenae), and VI (indica) (Bhunia, 2008). Existen alrededor de 2600 serotipos de *S. enterica*, los cuales son clasificados en base a sus antígenos flagelares y lipopolisacáridos (Guibourdenche *et al.*, 2010). Aunque todos pueden ser considerados patógenos para el hombre, difieren en cuanto a las características y gravedad de la enfermedad que causan (Fernández, 2008). Los serotipos de *S. enterica* pueden causar dos cuadros clínicos principalmente. NTS causan salmonelosis, una gastroenteritis que se caracteriza por diarrea, dolor abdominal y náuseas, en algunas ocasiones causa vómito (WHO, 2015). Mientras que los serotipos Typhi y Paratyphi causan fiebre tifoidea y paratifoidea, respectivamente, siendo el principal síntoma la fiebre (39 a 40 °C) (Ao *et al.*, 2015; Horn & Bhunia, 2018). Ambos cuadros clínicos se pueden complicar y causar septicemia. En algunos casos NTS pueden tener una alta capacidad invasiva, a esas cepas se les llama NTS invasivas (iNTS). Las iNTS causan bacteriemia y septicemia, que muchas veces no se encuentra relacionada con diarrea, este tipo de cuadro se desarrollan principalmente en zonas de África, en pacientes con VIH, y niños con malaria y desnutrición (Ao *et al.*, 2015) (Tabla 1).

**Tabla 1.** Características de las diferentes enfermedades causadas por *S. enterica* en el mundo.

Agente etiológico	Enfermedad	Características de la enfermedad	Peso de la discapacidad	Enfermedades asociadas al consumo de alimentos	Muestras asociadas al consumo de alimentos	Años de vida ajustados por discapacidad
NTS (la mayoría de los serotipos de <i>S. enterica</i> , principalmente se han relacionado cepas de las subespecies <i>enterica</i> y <i>arizonae</i> ). Serotipos más relacionados: Agona, Dublin, Hadar, Enteritidis, Poona, Typhimurium, Newport	Diarrea	Los síntomas comienzan a manifestarse después de las 6 a 12 h de la ingesta de la bacteria. El 73 % de los casos experimenta una diarrea leve. El 25 % una diarrea moderada y el 2 % diarrea severa. En niños menores de 5 años, la duración promedio de la enfermedad son 4.9 días, mientras que para personas mayores a 5 años es de 2.8 días. Los síntomas principales son diarrea, dolores abdominales, náuseas y vomito en algunas ocasiones.	0.101	78 439 785	28 693	2 183 146
	iNTS (principalmente serotipos Typhimurium y Enteritidis)	Invasiva	Ocurre principalmente en personas que tienen VIH, y en niños con malaria y/o desnutridos. Los principales síntomas son fiebre, dolor en la parte superior del tórax, escalofríos, anemia. En ocasiones puede causar neumonía, hepatomegalia y esplenomegalia. En promedio, la enfermedad puede durar 28 días (7 - 56 días).	0.210	284 972	29 391
S. Paratyphi	Fiebre paratifoidea	Los principales síntomas son fiebre, fatiga, cefalea, náuseas, dolor abdominal, constipación y en raras ocasiones diarrea. El periodo de incubación es de 5 a 21 días. La duración aproximada es de 28 días. La intensidad de la enfermedad es menor que la de la fiebre tifoidea.	0.210	1 741 120	12 069	855 730
	Abscesos y quistes hepáticos	Duración de la enfermedad aproximadamente 42 días.	0.254			
S. Typhi	Fiebre tifoidea	Los principales síntomas son fiebre, fatiga, cefalea, náuseas, dolor abdominal, constipación y en raras ocasiones diarrea. El periodo de incubación es de 5 a 21 días. LA duración aproximada es de 28 días.	0.210	7 570 087	52 472	3 720 565
	Abscesos y quistes hepáticos.	Duración de la enfermedad aproximadamente 42 días.	0.254			

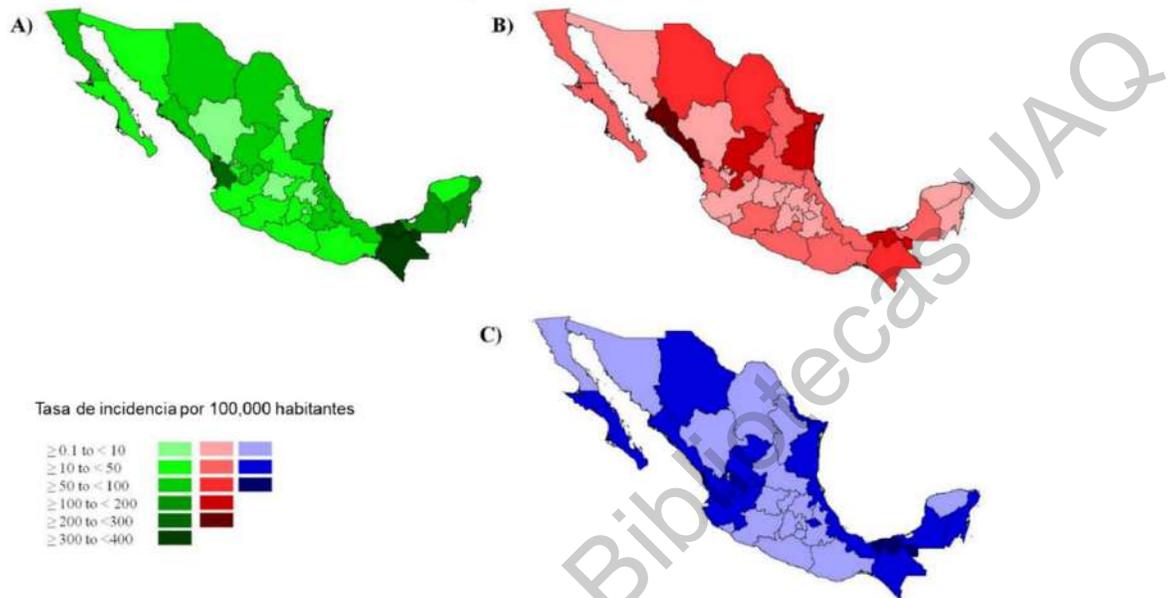
(Ao *et al.*, 2015; Bhunia, 2008; Faura *et al.*, 2002; WHO, 2015)

### 2.2.1.2 *S. enterica*: Un problema de salud en México

En el año 2019 se reportaron en México 78681 casos de salmonelosis (NTS), 28815 de fiebre tifoidea y 9429 de fiebre paratifoidea A. La tasa de incidencia por cada 100000 habitantes (TI) en el país de NTS, *S. Typhi* y *S. Paratyphi A* en el 2019 fue de 62.16, 22.76, 9.28, respectivamente (DGE, 2021). Aunque se realiza el seguimiento epidemiológico de los casos de enfermedad generados por *S. enterica* se desconoce cuántos de ellos se atribuyen al consumo de alimentos, y cuáles de estos son los más asociados a estas enfermedades. De acuerdo a diversos estudios a lo largo del tiempo en México se ha observado que *S. Typhimurium* y *S. Enteritidis* son los principales serotipos asociados con esta enfermedad (Gutiérrez-Cogco, Montiel-Vázquez, Aguilera-Pérez, & González-Andrade, 2000b; Paniagua-Contreras, Monroy-Pérez, & Vaca-Pacheco, 2008; Zaidi *et al.*, 2008, 2006, 2013). En la Figura 4 se muestra la distribución de la TI por estado acumulada entre el 2000 y 2017 para los tres diferentes cuadros clínicos, observándose que para los casos de NTS la mayor TI se encuentra en dos de los estados con menor nivel socioeconómico, Chiapas y Tabasco.

El rango de la TI de NTS reportada en el 2019 en los diferentes estados de México estuvo entre 0.32 y 354.15 casos por 100,000 habitantes. Los rangos de edad entre 44 y 49 años fueron los que reportaron la mayor TI (96.48), mientras que la TI para infantes menores de un año, y entre uno y cuatro años fue de 11.06 y 22.59 por cada 100,000 habitantes respectivamente (DGE, 2021), tendencias opuestas a lo que se reporta a nivel mundial donde los niños menores de 5 años con los más afectados por NTS. Por ejemplo, en Estados Unidos el Centro para el Control y Prevención de Enfermedades reporta que el grupo de edad de niños menores de 5 años tienen la mayor TI (63), la cual es de 3.5 hasta 6 veces más que para los demás grupos de edad (CDC, 2017). La discrepancia entre los datos de nuestro país con los de Estados Unidos puede asociarse con la falta de identificación del agente etiológico de los casos clínicos. En el 2019, en México hubo una TI de las “infecciones intestinales por otros organismos y las mal definidas” de 4235.03, encontrándose que de acuerdo al grupo de edad los infantes menores de

un año tienen una TI de 10509.95, seguido por los niños de entre 1 y 4 años de edad con una TI de 8805.91 (DGE, 2021).



**Figura 4 .** Distribución geográfica de la tasa de incidencia de casos clínicos ocasionados por *S. enterica* en México. A) NTS (periodo 2014- 2017), B) *S. Typhi* (periodo 2000- 2017), C) *S. Paratyphi A* (periodo 2014 – 2017) (Godínez-Oviedo, Tamplin, Bowman, & Hernández-Iturriaga, 2019).

La falta de diagnóstico es una de las causas de la subestimación de los casos reales, ya que los casos reportados son solo una proporción de estos, por lo cual es importante ajustarlos con un factor de multiplicación. Para el caso de las NTS asociadas al consumo de alimentos en México el factor de multiplicación se ha estimado que es de 49 (Godínez-Oviedo *et al.*, 2019).

El uso de antibióticos para tratar cuadros moderados o leves de salmonelosis no es recomendado, esta terapia se emplea en cuadros severos o cuando el paciente tiene algunos factores de riesgo que podrían agravar la enfermedad. Sin embargo, para conocer a profundidad el problema de salud pública que genera *S. enterica* en nuestro país es importante analizar la resistencia a antibióticos (RA) de las cepas que están circulando, ya que recientemente la Organización Mundial de la Salud (OMS) considero la RA como una de las mayores

amenazas para la salud mundial (WHO, 2014). Pese a que evaluar la RA es importante, ya que no solo puede haber un efecto en el riesgo sino en la severidad, México tiene pocos estudios que se enfocan en la RA ya sea en cepas clínicas o aisladas de alimentos (Aguilar-MontesDeOca et al., 2017; Cabrera-Diaz et al., 2013; Miranda, Mondragón, Martínez, Guarddon, & Rodríguez, 2009; Nayarit-Ballesteros et al., 2016; Perez-Montaña et al., 2012; Realpe-Quintero et al., 2018; Talavera et al., 2011; Villalpando-Guzmán, Vázquez-Quiñones, Natividad-Bonifacio, Curiel-Quesada, Everardo Quiñones-Ramírez, & Vázquez-Salinas, 2017a; Zaidi et al., 2008, 2006, 2013). En la Tabla 2 se muestra la recopilación de la RA de cepas aisladas de alimentos de origen animal, vegetal y casos clínicos. La estreptomocina y tetraciclina fueron los antibióticos al cual la mayoría de las cepas aisladas de las diferentes fuentes tuvieron mayor resistencia.

**Tabla 2.** Resistencia a antibióticos de cepas de *S. enterica* aisladas de casos clínicos y de alimentos.

Antibiótico	Alimentos de origen animal	Alimentos de origen vegetal	Casos clínicos
AMP	50.1 (520/1020)	29.4 (5/17)	16.7 (279/1615)
GEN	13.0 (75/575)	0.0 (0/17)	6.8 (110/1615)
KAN	4.7 (36/760)	0.0 (0/17)	5.0 (62/1250)
STR	63.2 (446/706)	41.1 (7/17)	59.3 (741/1250)
CIP	2.0 (14/706)	23.5 (4/17)	0.2 (4/1615)
NAL	18.7 (199/1064)	35.3 (6/17)	23.0 (371/1615)
CEP	11.5 (61/531)	29.4 (5/17)	NR
CRO	4.9 (49/988)	NR	7.7 (125/1615)
CTX	57.8 (296/512)	0.0 (0/17)	NR
CHL	39.1 (399/1020)	35.3 (6/17)	18.3 (296/1615)
SXT	23.16 (271/1170)	23.5 (4/17)	19.7 (318/1615)
TET	67.2 (487/725)	35.3 (6/17)	46.1 (745/1615)

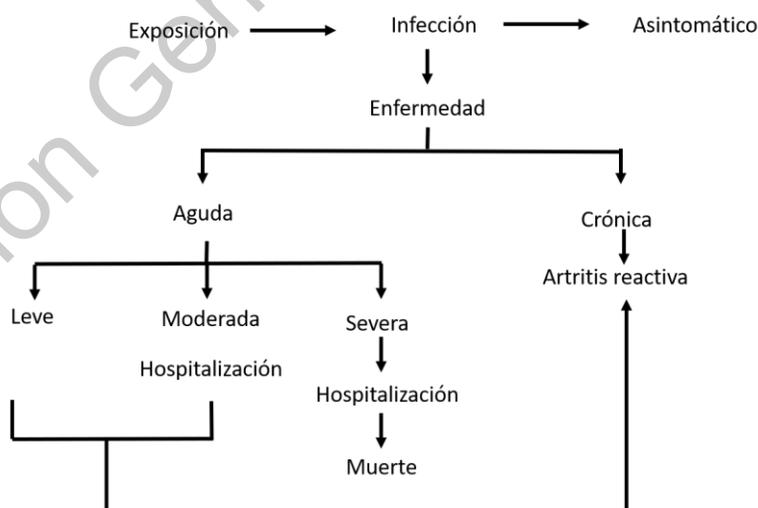
(Cabrera-Diaz et al., 2013; Miranda et al., 2009; Nayarit-Ballesteros et al., 2016; Perez-Montaña et al., 2012; Talavera et al., 2011; Villalpando-Guzmán et al., 2017; Zaidi et al., 2013, 2008, 2006).

No todos los estudios han evaluado todos los antibióticos mencionados, de la misma forma se emplearon aquellos estudios que separaron las cepas por de fuente de aislamiento. Los datos de resistencia reportados en su mayoría fueron obtenidos mediante la técnica de difusión en disco. Todos los datos de cepas clínicas incluyeron cepas resistentes y de resistencia intermedia, mientras que en el caso de cepas aisladas de alimentos de origen animal solo un trabajo incluyo resistencia y resistencia intermedia. AMP, ampicilina; KAN, kanamicina; STR, estreptomocina, GEN, gentamicina; NAL, ácido nalidixico; CIP, ciprofloxacino; CEP, cefalotina; CRO, ceftriaxona; CTX, cefotaxima; CHL, cloranfenicol; STX trimetoprima/sulfametoxazol; TET, tetraciclina.

Algunas de las cepas estudiadas en las investigaciones pasadas muestran que estas son multirresistentes a antibióticos (MRA), es decir que resisten a tres o más antibióticos de al menos tres familias diferentes (Magiorakos *et al.*, 2012), puede afectar las terapias con antimicrobianos, prologar el tiempo y severidad de la enfermedad (WHO, 2014). Las cepas aisladas de alimentos de origen animal son las más asociadas con la MRA (Cabrera-Díaz *et al.*, 2013; Miranda *et al.*, 2009; Nayarit-Ballesteros *et al.*, 2016; Perez-Montaña *et al.*, 2012; Zaidi *et al.*, 2006), lo puede deberse al uso frecuente de antibióticos en la explotación animal (Doyle, 2015).

### 2.2.2 Caracterización del peligro

La capacidad de ocasionar enfermedad por un microorganismo patógeno transmisible por alimentos es un proceso complejo en el que interactúan la bacteria, el hospedero y el alimento. La probabilidad así como la severidad de la enfermedad causada por los patógenos depende de la susceptibilidad del hospedero, naturaleza de la matriz alimentaria, así como la características intrínsecas del microorganismo (Maurer, 2017). Los posibles resultados de la exposición a *S. enterica* se muestran en la Figura 5.

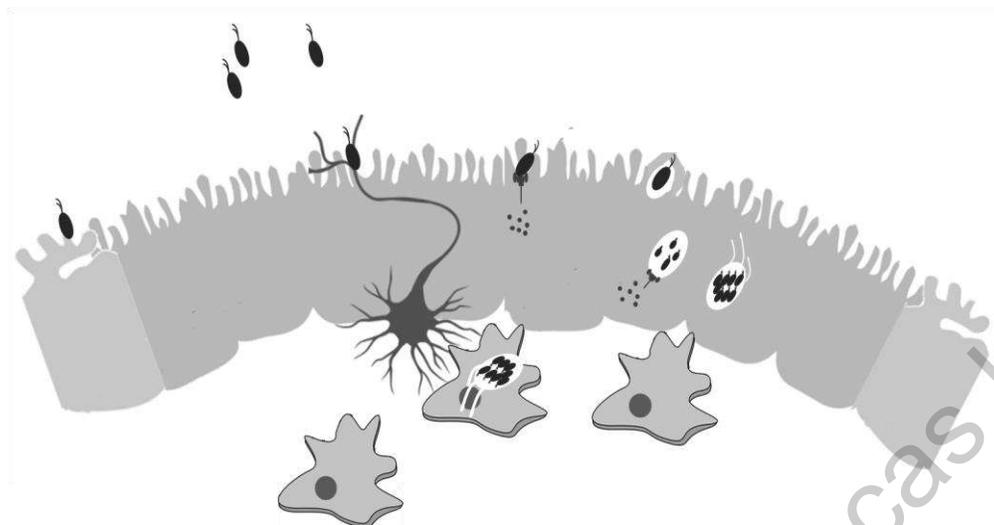


**Figura 5.** Posibles resultados de la exposición a *S. enterica*.

Elaborado con información de (Haeusler & Curtis, 2013)

### 2.2.2.1 Mecanismo de infección de *S. enterica* no tifoidea

El mecanismo de infección de NTS empieza desde su capacidad de sobrevivir al ácido gástrico y tener acceso al epitelio intestinal, donde puede persistir evadiendo mecanismos bactericidas (enzimas digestoras, sales biliares, globulina A secretoria, péptidos antimicrobianos) (Ahmed *et al.*, 2016; Griffiths, 2005; Larock *et al.*, 2015; McGhie *et al.*, 2009). En el lumen intestinal, el proceso se divide en varios pasos: adhesión, invasión, replicación, resistencia a los mecanismos de defensa y daño al hospedero (Figuroa-Ochoa & Verdugo-Rodríguez, 2005) (Figura 6). Primero la bacteria tiene que ser ingerida mediante agua o un alimento contaminado, y sobrevivir el paso por el estómago. Posteriormente atraviesa el tracto digestivo hasta el lumen intestinal, donde logra atravesar la barrera epitelial, ya sea por un mecanismo pasivo facilitado por las células dendríticas o M, o por un mecanismo invasivo a través de las células epiteliales. Para atravesar la pared intestinal por un mecanismo invasivo, la bacteria se adhiere a las células de tejido intestinal empleando diversos tipos de adhesinas. Posteriormente el patógeno mediante el sistema de secreción tipo III uno (SSIII-1), mecanismo específico que funciona muy similar a una jeringa, inyecta efectores bacterianos al citoplasma del hospedero, los cuales provocan un reacomodamiento de los filamentos del citoesqueleto de las células creando membranas ondulatorias que rodean a la bacteria patógena y la introducen a las células del intestino. Después de penetrar a la célula NTS reside en un compartimento vacuolar denominado la vacuola que contiene a *Salmonella* (SCV, por sus siglas en inglés) el cual experimenta modificaciones y alteraciones en su superficie que la distingue morfológicamente. Dentro de SCV se induce la expresión y ensamblaje del segundo sistema de secreción tipo III (SSIII-2), en el cual se translocan varios efectores bacterianos a la membrana vacuolar. Estos efectores contribuyen a la formación de filamentos lo que le da movimiento y protección. La SCV permite al patógeno sobrevivir y reproducirse dentro de este compartimento. A su vez el patógeno produce efectos citotóxicos mediante compuestos liberados al citoplasma que resultan en la piroptosis de macrófagos (Figuroa-Ochoa & Verdugo-Rodríguez, 2005; Larock *et al.*, 2015; Sánchez-Jiménez & Cardona-Castro, 2003).

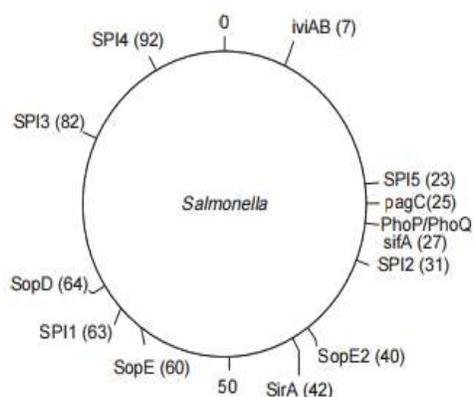


**Figura 6.** Mecanismo de infección de *S. enterica* no tifoidea.

Modificado de LaRock *et al.*, 2015

### 2.2.2.2 Patogenicidad de *S. enterica*

La mayoría de los genes requeridos para que NTS cause enfermedad se encuentran agrupados en islas de patogenicidad (SPI, por sus siglas en inglés), las cuales están constituidas por un grupo de genes involucrados en codificar factores específicos de virulencia (Gerlach & Hensel, 2007). Hasta el día de hoy se conocen 23 SPI, de las cuales 5 (SPI1-SPI5) están presentes en todas las cepas de *S. enterica*, y las demás dependen del serotipo y/o de la cepa en cuestión (Gerlach & Hensel, 2007) (Figura 7).



**Figura 7.** Localización de genes de virulencia en el cromosoma de *Salmonella*

(Figuroa-Ochoa & Verdugo-Rodríguez, 2005).

A continuación se describen algunas características de las 5 SPI presentes en todas las cepas de *S. enterica* (Espinoza *et al.*, 2017; Figueroa-Ochoa & Verdugo-Rodríguez, 2005):

- SPI1: principalmente requerida para la penetración de la bacteria a las células epiteliales del intestino, se localiza en el centisoma 63, correspondiente a un segmento de 35-40 kb que contiene alrededor 31 genes que codifican en proteínas translocadoras de moléculas efectoras y chaperonas (SSIII-1).
- SPI2: requerida principalmente para el desarrollo y sobrevivencia del microorganismo en el huésped, se localiza en el centisoma 31, correspondiente a un segmento de 40 kb que contiene alrededor de 32 genes que codifican los componentes del segundo sistema de secreción tipo III (SSIII-2).
- SPI3: requerida principalmente para el desarrollo y sobrevivencia del microorganismo en el huésped, se localiza en el centisoma 82, correspondiente a un segmento de 17 kb.
- SPI4: requerida para secreción de toxinas y se cree que participa en la adaptación del patógeno a los macrófagos, se localiza en el centisoma 92, correspondiente a un segmento de 27 kb que contiene 18 genes.
- SPI5: codifica genes de virulencia que median el proceso inflamatorio y la secreción de cloruros que caracterizan la fase enterica de esta enfermedad, se localizada en el centisoma 23, correspondiente a 7.5 kb.

No todas las SPI, han sido asociadas con la causa de enfermedad, encontrándose que los efectores codificados por SPI-1 y SPI-2, son las más importantes, ya que son requeridos para la piroptosis de macrófagos (Lostroh & Lee, 2001; Wallis & Galyov, 2000) y para la colonización de puntos sistémicos (Rychlik *et al.*, 2009). Es importante tomar en cuenta que no todos los genes de virulencia se encuentran en las SPI, sino también en elementos genéticos móviles (profagos y plásmidos). Los plásmidos de virulencia de *S. enterica* son de 50 a 100 Kb, y se han asociado con la habilidad de propagación después de la colonización, la invasión del intestino, la habilidad de desarrollar en el bazo y la supresión del sistema inmune.

En la Tabla 3 se muestran algunos de los genes involucrados en la virulencia de cepas de *Salmonella* (Borges *et al.*, 2013; Figueroa-Ochoa & Verdugo-Rodríguez, 2005; Kaur & Jain, 2012; Liss *et al.*, 2017; Sánchez-Jiménez & Cardona-Castro, 2003).

**Tabla 3.** Principales genes de virulencia de *S. enterica*.

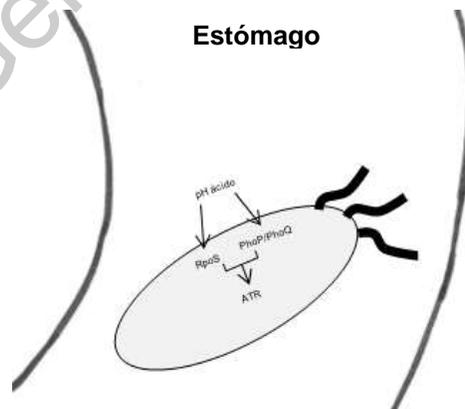
Ubicación	Gen	Función general
SPI-1	<i>hliA</i>	Codifica componentes reguladores, los cuales son necesarios para la expresión de los componentes de SSIII-1 y también son requeridos para invadir la célula e inducir apoptosis en macrófagos.
	<i>invA</i> <i>InvC</i> <i>invE</i> <i>InvG</i> <i>invF</i> <i>InvH</i>	Codifica efectores que actúan como factores de adhesión y componentes estructurales del complejo aguja del SSIII-1.
	<i>SpaP</i> <i>SpaQ</i> <i>SpaR</i> <i>spaS</i>	Codifica efectores que actúan como componentes estructurales del complejo aguja del SSIII-1, y también efectores requeridos para invasión y para la secreción de proteínas Sip.
	<i>PrgH</i> <i>PrgK</i>	Codifica efectores que actúan como componentes estructurales del complejo aguja del SSIII-1
	<i>orgA</i>	Codifica efectores que actúan como componentes estructurales del complejo SSIII-1 y proteínas requeridas para invasión de células epiteliales en cultivo y citotoxicidad en macrófagos.
	<i>sipD</i> <i>sipB</i> <i>SipC</i>	Codifican proteínas efectoras que se comportan como translocasas y son responsables de formar poros en la membrana de la célula eucarionte.
	<i>sipA</i>	El efector SipA es una proteína de unión a actina, que inhibe la despolimerización de F-actina. Inducen apoptosis en macrófagos.
	<i>Ssp</i> <i>Spt</i>	Codifican proteínas efectoras para el proceso de invasión.
	<i>ssaH</i> <i>ssaJ</i> <i>ssaQ</i>	Codifica efectores que actúan como componentes estructurales del complejo aguja del SSIII-2.
	<i>Ssr</i>	Codifica componentes reguladores del SSIII-2.
	<i>SseJ</i> <i>seeG</i>	Secreta efectores del SSIII-2.
	<i>Scs</i> <i>sifA</i> <i>sifB</i>	Codifica chaperonas para el SSIII-2. Codifica efectores los cuales interactúan con proteínas motoras y están involucrados en la formación de filamentos de la SCV.

<b>Plásmido</b>	<i>spvB</i> <i>spvC</i>	Codifica efectores que ayudan al proceso de invasión y multiplicación y supervivencia en el hospedero
	<i>pefA</i>	Operones fimbriales que sirven para la adherencia del patógeno a las células epiteliales.
<b>Profago</b>	<i>sopE</i> <i>sopE2</i>	Codifica proteínas involucradas en el proceso de que permite la internalización de <i>Salmonella</i> .
<b>Cromosoma</b>	<i>Fim</i> <i>agfA</i> <i>Lpf</i> <i>Ser</i>	Codifica efectores asociados al proceso de adhesión del patógeno a las células epiteliales.
	<i>sopB</i>	Codifica la proteína SopB a la cual se le ha relacionado con la activación de las vías secretoras, la atracción de neutrófilos a los sitios de la infección (aumentando así la inflamación), y la alteración de los equilibrios iónicos dentro de las células.

Borges *et al.*, 2013; Figueroa-Ochoa & Verdugo-Rodríguez, 2005; Kaur & Jain, 2012; Liss *et al.*, 2017; Sánchez-Jiménez & Cardona-Castro, 2003.

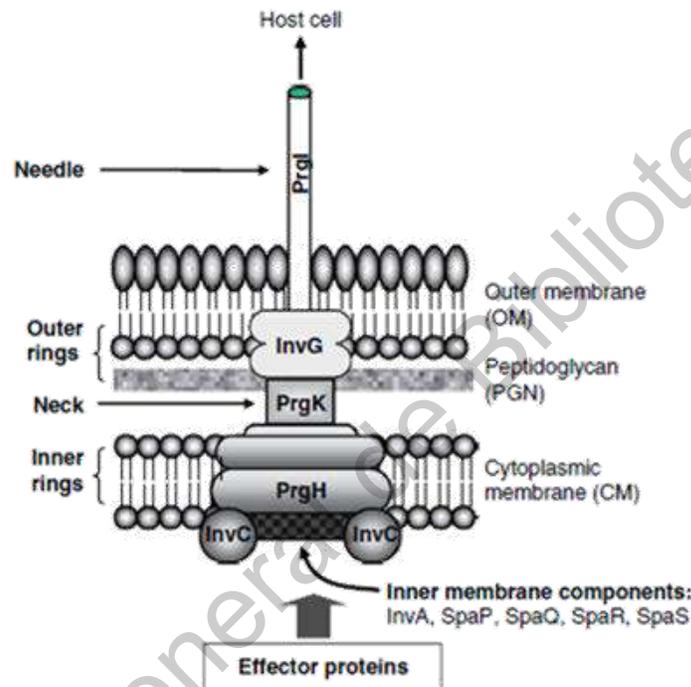
### 2.2.2.3 Interacción de *S. enterica* con el huésped

Las células de *S. enterica* al pasar a través de estómago activan un mecanismo denominado respuesta de tolerancia al ácido (ATR por sus siglas en inglés), regulado por los genes *rpoS* (factor  $\sigma$ ) y *phoP/Q* (sensor/regulador), los cuales activan la expresión de proteínas de choque térmico, que ayudan a la supervivencia del patógeno en condiciones de acidez fuerte (Griffiths, 2005) (Figura 8).



**Figura 8.** Mecanismos de respuesta de *S. enterica* durante su paso por el estómago. Elaborado con información de Bhunia, 2008.

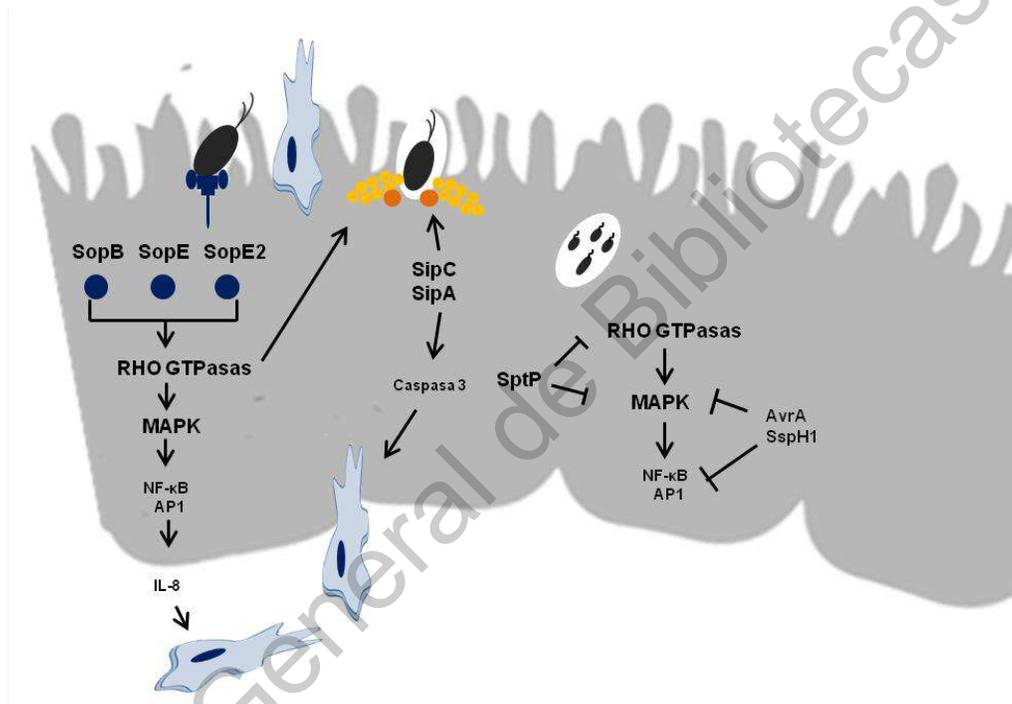
Al llegar al intestino delgado, para adherirse a las células M, dendríticas o enterocitos, el microorganismo emplea adhesinas (Fim, Lpf, PefA, Curli, AgfA) (Bhunia, 2008; Griffiths, 2005). Para atravesar la barrera epitelial de forma activa mediante el reordenamiento de la membrana de los enterocitos, se activa el SSIII-1 codificado por la SPI-1, el gen *hilA* regula la expresión de esta isla. El SSIII-1 está formado por los efectores de la SPI 1: OrgA, OrgB, OrgC, PrgK, PrgJ, PrgI, PrgH, SpaO, SpaP, SpaQ, SpaR, SpaS, InvA, InvE, InvG, InvH, InvC, InvI, InvJ (Figura 9).



**Figura 9.** Sistema de secreción tipo tres codificado por la SPI-1 (Bhunia, 2008)

Por el aparato SSIII-1 son excretados a los enterocitos SopB (efector codificado por la SPI-5), SopE, SopE2, SppH1 (efector de profagos) y SptP, ArvA, SipC, SipA (efector codificados por la SPI-1). SopE, SopE2 y SopB activan la enzima Rho GTPasas de los enterocitos que por un lado activa la polimerización de la actina y por otro induce las rutas de proteínas quinasas activadas por mitógenos (MAPK) que activan el factor  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) y la proteína activadora 1(AP1) que estimula la producción de IL-8. La IL-8 promueve la migración de los neutrófilos de la luz intestinal a la membrana mucosa (Bhunia, 2008; Larock *et al.*, 2015).

Los efectores SipA y SipC son responsables de la reorganización del citoesqueleto lo que promueve la ondulación de la membrana para la invaginación del patógeno. SipA activa la caspasa 3 que también promueve la migración de los neutrófilos. Cuando el patógeno es invaginado por los enterocitos SptP inhibe la RHO GTPasas; AvrA y SptP las rutas MAPK; y SspH1 y AvrA inhiben NF-κB y AP1 (Bhunia, 2008; Griffiths, 2005; Guiney, 1997; Larock *et al.*, 2015). De esta manera *S. enterica* atraviesa la barrera epitelial y es capaz de infectar macrófagos (Figura 10).



**Figura 10.** Mecanismo de invasividad de *S. enterica* a las células epiteliales.

Elaborado con información de Larock *et al.*, 2015

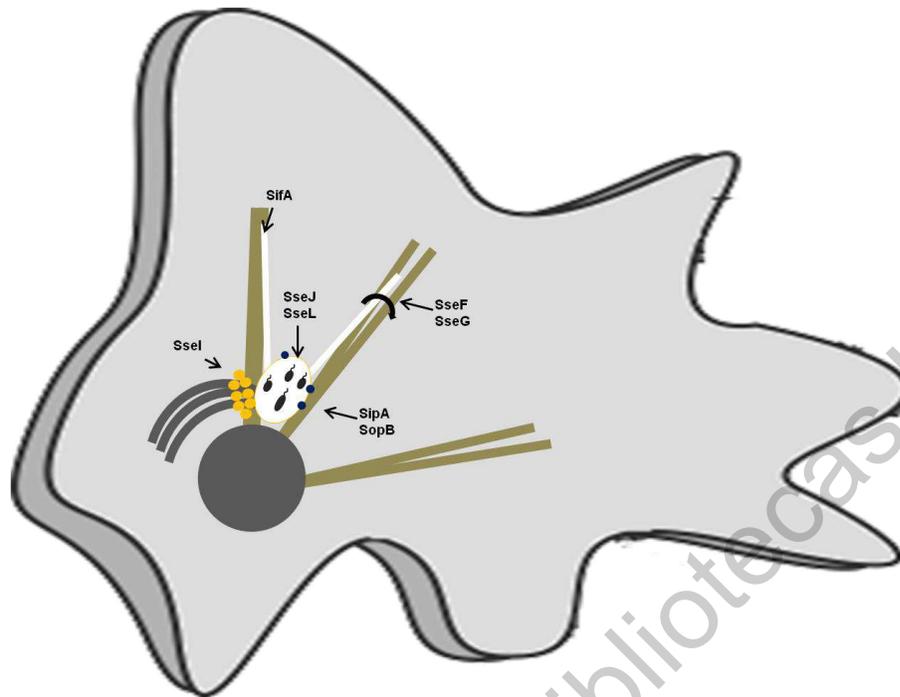
*S. enterica* dentro de SCV tiene la capacidad de sobrevivir y desarrollar. Debido a la baja concentración de oxígeno y magnesio, así como a la carencia de nutrientes a la que está expuesta *Salmonella* tanto en las células epiteliales como en macrófago se activa el sensor/regulador PhoQ/PhoP el cual inhibe la expresión de los genes prgs (genes de represión PhoP) como el gen *hilA*, y por otra parte activa los genes pags (genes de activación PhoP) entre los cuales se encuentran

genes de la SPI-2 (Guiney, 1997). SopB y SipA persisten en esta etapa del proceso de infección contribuyendo a la biogénesis dentro de la vacuola (Haraga *et al.*, 2008; McGhie *et al.*, 2009).

El SSIII-2 codificado por genes de SPI-2 está formado por los efectores SsaB-E y SsaG-U, este sistema secreta efectores codificados por la SPI-2 (SseA, SseB, SseC, sseD, sseE, SseF y SseG), por profagos (SspH2) y otros genes cromosomales (SifA). La inducción de filamentos por *Salmonella* (Sifs) que se originan en SCV y extienden por toda la célula esta regulados por SifA. Una de las principales funciones de los Sifs es incrementar el tamaño de SCV que permita contener a todas las bacterias que se están replicando en ella (Haraga *et al.*, 2008). Por otra parte, SseF y SseG promueven la agrupación de microtúbulos adyacentes a SCV y la atracción de vesículas generadas en el aparato de Golgi. SspH2 y Ssel se han visto involucrados en la polimerización de activa alrededor de la SCV. Mientras SseJ y SseL con la composición lipídica de la SCV (Haraga *et al.*, 2008; Larock *et al.*, 2015)

En esta etapa RpoS también regula la expresión de genes de virulencia del plásmido spv. Este factor sigma activa *spvR* el cual regula la expresión de *spvA*, *spvB*, *spvC* y *spvD*, los cuales se han observado que son esenciales para la infección sistémica en ratones (Guiney, 1997).

En el caso de que SCV se rompa, *Salmonella* quedaría expuesta en el citoplasma y por la presencia de nutrientes podría proliferar, pero al mismo tipo se activa el mecanismo de defensa del huésped que genera la ubiquitinación y degradación del patógeno mediante la formación de un autofagosoma (Herhaus & Dikic, 2017). Para contrarrestar esta respuesta inmunológica y prevenir la autofagia, SseL y AvrA que son desubiquitininas evita que el huésped reconozca los agregados de ubiquitina. Otro mecanismo que emplea el patógeno es la secreción de SSpH1 y SspH2 que son enzimas E3 ligasas de ubiquitina que remueven proteínas del hospedero mediante ubiquitinación (Herhaus & Dikic, 2017; Larock *et al.*, 2015; Narayanan & Edelman, 2014) (Figura 11).



**Figura 11.** Biogénesis de *S. enterica* en SCV. Elaborado con información de LaRock *et al.*, 2015.

#### 2.2.2.4 Factores que afectan la virulencia de cepas de *S. enterica*

La virulencia es definida como el grado de patogenicidad de un microorganismo. La variabilidad de la virulencia intra-especie puede afectar probabilidad de enfermar como la severidad de la enfermedad. Esta variabilidad puede depender de las características genotípicas o características fenotípicas de las cepas. En el caso de la HG, la presencia o ausencia de ciertos genes de virulencia, el polimorfismo y las alteraciones en el nivel de expresión de estos genes juegan un rol importante en la variabilidad de la virulencia (Maurer, 2017). Mientras que, en el caso de la HF, la variabilidad en las características fisiológicas, metabólicas y de comportamiento del patógeno generadas por la exposición a diferentes factores ambientales durante el ciclo de vida del patógeno también se han asociado con un efecto sobre el nivel de virulencia. Por ejemplo, algunos estudios en *S. enterica* demuestran que células que han sido previamente expuestas y/o adaptadas a condiciones moderadas de acidez y son sometidas posteriormente a simulaciones gástricas, tienden a sobrevivir más que aquellas que

no han sido expuestas (Bacon, Sofos, Kendall, Belk, & Smith, 2003; Berk, De Jonge, Zwietering, Abee, & Kieboom, 2005; Lianou, Nychas, & Koutsoumanis, 2017a; Samelis, Ikeda, & Sofos, 2003). Otro ejemplo, es la MRA, algunos estudios han encontrado que cepas MRA de *S. Typhimurium* han sido asociadas con un mayor riesgo de infección, mayor frecuencia de la infección, incremento en los periodos de hospitalización así como incremento en el riesgo de morir comparadas con cepas que son susceptibles (Gordon *et al.*, 2008; Gupta *et al.*, 2003; Helms, Ethelberg, Mølbak, & Group, 2005; Leekitcharoenphon *et al.*, 2016).

### 2.2.2.5 Modelos dosis respuesta de *S. enterica*

La mínima dosis infectiva para causar salmonelosis puede ser tan baja como una célula, dependiendo de las características del huésped y de la cepa (FDA, 2012). Los modelos dosis respuesta que se utilizan para evaluar la probabilidad de enfermar por el consumo de alimentos pueden dar diferentes estimaciones dependiendo de la información que se empleó para desarrollarlo. En el caso de *S. enterica* se han desarrollado modelos a partir de la información generada por datos de alimentación a humanos, datos de alimentación a humanos con subrogados (*Shigella dysenteriae*), datos epidemiológicos y pruebas con animales. En la Tabla 4 se muestran algunos de los modelos dosis respuesta desarrollados para *S. enterica*. El modelo propuesto por la FDA y OMS es uno de los más empleados. Por otra parte, el modelo de Teunis toma en cuenta la probabilidad de infectar y la probabilidad dada la infección. Finalmente, únicamente el modelo de Latimer y colaboradores evalúa el nivel de virulencia de las cepas de *S. enterica*; sin embargo, esta evaluación es muy subjetiva, por lo cual es necesario seguir realizando estudios al respecto.

**Tabla 4.** Modelos dosis respuestas para *S. enterica*.

Fuente de información	Modelo	Parámetros	Características
Pruebas con humanos	Beta-Poisson $P_{enf} = 1 - \left(1 + \frac{dose}{\beta}\right)^{-\alpha}$	$\alpha = 0.3126$ $\beta = 2885$ $\alpha = 0.4047$ $\beta = 5587$	Modelo generado por Fazil en 1996, usando datos de diversas pruebas con humanos por McCullough y Eisele. El primer modelo generado fue tomando en cuenta todos los datos solo removiendo 3

			datos atípicos. El segundo modelo fue realizado fue eliminando algunos datos donde se habían dado múltiples alimentaciones (FAO/WHO, 2002).
Pruebas con humanos	Beta-Possion $P_{enf} = 1 - \left(1 + \frac{dose}{\beta}\right)^{-\alpha}$	Normal $\alpha = 0.2767$ $\beta = \text{Normal} (\mu = 21.159, \sigma = 20, \text{min}=0, \text{máx.}=60)$ Susceptible $\alpha = 0.2767$ $\beta = \text{Normal} (\mu = 2.116, \sigma = 2, \text{min}=0, \text{máx.}=6)$	Este modelo fue creado por USDA-FSIS FDA en 1998 usando como microorganismo subrogado a <i>Shigella dysenteriae</i> . Se realizaron dos modelos uno para población susceptible y otro para población normal (FAO/WHO, 2002)
Pruebas con humanos e información epidemiológica	Re parametrizado Weibull $P_{enf} = 1 - \exp(-\exp\{b(\ln(d) - k)\})$ $\beta = \ln(b)$ $k = \frac{-\ln(\theta)}{b}$ $\theta = \frac{-\ln(1 - P)}{X^b}$	$\beta = \text{Normal} (\mu = -1.22, \sigma = 0.025)$ Concentración = Lognormal ( $\mu = 0.15, \sigma = 0.1$ ) Cantidad consumida = Pert (min=60, moda=130, máx.=260) P = 6.6% $a_s = 231$ $b_s = 986$ $a_n = 749$ $b_n = 5996$ X = dosis	Modelo propuesto en el 2000 por el Departamento de Salud de Canadá (Health Canada), usando pruebas con humanos y brotes. Sin embargo carece de transparencia (FAO/WHO, 2002)
Información epidemiológica	Beta-Possion $P_{enf} = 1 - \left(1 + \frac{dose}{\beta}\right)^{-\alpha}$	$\alpha = 0.1324$ $\beta = 51.45$	Modelo desarrollado por la FAO y OMS en el 2002, se empleó la información de 20 brotes. Se comparó sus estimaciones con los modelos mencionados anteriormente, siendo este el que generaba mejores ajustes (FAO/WHO, 2002).
Pruebas con humanos	Exponencial $P_{enf} = 1 - e^{-dr}$	Baja $r = 9.32 \times 10^{-9}$ Moderada $r = 5.58 \times 10^{-7}$ Alta $r = 2.05 \times 10^{-4}$	A partir de datos de pruebas en humanos de acuerdo con el resultado final de las enfermedades se agruparon en de baja, moderada y alta virulencia. Observando que los datos obtenidos mediante información epidemiológica (brotes) muestran cepas altamente virulentas se usó la información del subrogado <i>S. dysenteriae</i> , como de alta virulencia (Latimer, Jaykus, Morales, Cowen, & Crawford-Brown, 2001)
Estudios con animales	Beta-Possion $P_{inf} = 1 - \left(1 + \frac{dose}{\beta}\right)^{-\alpha}$ Exponencial $P_{inf} = 1 - e^{-dr}$	Baja $\alpha = 9.31 \times 10^4$ $\beta = 9.99 \times 10^{12}$ Moderada $\alpha = 9.21 \times 10^3$ $\beta = 3.165 \times 10^{10}$ Alta $\alpha = 1.57 \times 10^{-1}$ $\beta = 9.17$ $r = 1.2 \times 10^{-3}$ $\alpha = 0.261$ $\beta = 769$	Modelo desarrollado a partir de estudio de ratas macho Wistar, se evaluó la probabilidad de infectar (Havelaar, Garssen, Takumi, Koedam, & Dufrenne, 2001)

	Lineal trifásico	Ejemplo:	
Pruebas con humanos	$Y = 0 \text{ si } X \leq X_{\min}$ $Y = \alpha (X - X_{\min}) \text{ si } X_{\min} < X < X_{\max}$ $Y = 100 \text{ si } X \geq X_{\max}$	Anatum I $X_{\min} = 5.45$ , $X_{\text{med}} = 5.93$ $X_{\max} = 6.41$	Se realizaron 13 modelos para diferentes cepas de <i>S. enterica</i> (Oscar, 2004)
Información epidemiológica	Polinomial fraccionado	$\beta_0 = 0.323$ $\beta_1 = 5.616$ $\beta_2 = -8.462$ $\beta_3 = -7.782$ $d^2 = 0.780$ $p_1 = -2.25$ $p_1' = -0.25$ $S_{ij} = 1$ susceptible, 0 normal	Empleando la misma información de los brotes que el modelo de la FAO y OMS, generando un modelo para población susceptible y otro para normal (Bollaerts <i>et al.</i> , 2008)
Información epidemiológica	Jerárquico Beta-Poisson	$P_{enf} = P_{inf} \times P_{enf/inf}$ $P_{enf} = \left( 1 - {}_2F_1 \left( \alpha, r, \alpha + \beta, \frac{-cV_{ing}}{r} \right) \right) \times \left( 1 + ncV_{ing} \right)^{-p}$	Modelo desarrollado por Teunis y colaboradores a partir de datos de 38 brotes. Este modelo calcula la probabilidad de infectar y la probabilidad de enfermedad dada la infección (Teunis <i>et al.</i> , 2010).

### 2.2.3 Evaluación de la exposición

La evaluación de la exposición de *S. enterica* en alimentos puede realizarse desde el campo hasta a la mesa (producción en el campo, procesamiento en la industria, distribución y almacenamiento, preparación y consumo) dependiendo el objetivo final de la evaluación de riesgos.

Para realizar una evaluación cuantitativa de la exposición es importante conocer la prevalencia y concentración del patógeno en los alimentos, así como los cambios que puede presentar este microorganismo tanto en prevalencia como en concentración dada la producción, preparación y patrones de consumo.

#### 2.2.3.1 Prevalencia y concentración de *S. enterica* en alimentos

En el país diversos grupos de investigación se han dado a la tarea de evaluar la prevalencia de este patógeno en diferentes alimentos, con la finalidad de asociarlos con los cuadros de enfermedad, siendo la carne de pollo el alimento con la mayor prevalencia (Tabla 5). A pesar de que existen algunos estudios de prevalencia es importante continuar con investigaciones sobre la frecuencia de este

patógeno en los alimentos. De la misma forma, con la finalidad de poder realizar una evaluación cuantitativa de la exposición de NTS es importante conocer la concentración de este patógeno en los diferentes alimentos. En México, Escartín y colaboradores evaluaron la concentración de *S. enterica* en chorizo (0.4 a 900 NMP/g), y Martínez-Chávez y colaboradores en carne de res (1.0 a 4.8 Log NMP/25 g) (Escartin, Castillo, Hinojosa-Puga, & Saldaña-Lozano, 1999; Martínez-Chávez et al., 2015). Sin embargo, son muy pocos los estudios que han evaluado la concentración de *S. enterica*, siendo indispensable profundizar en este tipo de estudios.

**Tabla 5.** Prevalencia de *S. enterica* en diferentes alimentos colectados en México.

Alimento	Número total de muestras	Muestras positivas	Prevalencia (%)	Estado
Betabel	100	4	4	Ciudad de México
Pimiento	132	4	3	Querétaro
Broccoli	100	9	9	Ciudad de México
Melón Cantalupe	15	6	40	Coahuila
	20	9	45	Nayarit
Coliflor	100	9	9	Ciudad de México
Apio	100	3	3	Ciudad de México
Perejil chino	100	6	6	Ciudad de México
Perejil	100	12	12	Ciudad de México
Cilantro	100	11	11	Ciudad de México
Lechuga	100	7	7	Ciudad de México
Lechuga Romana	100	3	3	Ciudad de México
Mango Ataulfo	30	2	6.7	Nayarit
Cebolla	100	0	0	Ciudad de México
Naranja	75	10	13.3	Jalisco
Chile Jalapeño	100	12	12	Hidalgo
	40	1	2.5	Nuevo León
Chile Serrano	40	0	0	Nuevo León
	100	10	10	Hidalgo
Papas	100	1	1	Ciudad de México

Verdolaga	100	9	9	Ciudad de México
Espinaca	100	7	7	Ciudad de México
Jitomate Bola	40	1	2.5	Ciudad de México
Jitomate Cherry	333	39	11.7	Querétaro
Jitomate Saladette	40	0	0	Nuevo León
Berro	100	7	7	Ciudad de México
Calabacín	100	0	0	Hidalgo
	100	10	10	Ciudad de México
Germinado de alfalfa	100	4	4	Hidalgo
Tortilla	200	4	2	Hidalgo
Germinado de soja verde	100	5	5	Hidalgo
Jugo de betabel	100	4	4	Hidalgo
Jugo de zanahoria	280	24	8.6	Hidalgo
Ensalada de vegetales cocidos	220	9	4.1	Hidalgo
Jugo de naranja	100	9	9	Jalisco
Ensalada cruda	220	15	6.8	Hidalgo
	88	10	11.4	Ciudad de México
	126	68	54	Yucatán
	73	11	15.1	Hidalgo
	505	78	15.4	Jalisco
	115	7	6.1	Tamaulipas
	238	87	36.6	Jalisco
	100	16	16	Ciudad de México
	93	3	3.2	Ciudad de México
Carne de res	57	11	19.3	Jalisco
	74	0	0	Nuevo León
	160	8	5	Ciudad de México
	91	5	5.5	Jalisco
	121	2	1.2	Nuevo León
	864	152	17.6	Ciudad de México
	295	117	39.7	Yucatán
Carne de pollo	44	2	4.5	Tamaulipas
	116	41	35.3	Hidalgo

	76	48	63.2	Durango
	864	244	28.2	Ciudad de México
	339	197	58.1	Yucatán
	81	14	17.3	Hidalgo
	73	10	13.7	Ciudad de México
	55	7	12.7	Jalisco
Carne de puerco	10	0	0	Nuevo León
	110	12	10.9	Ciudad de México
	78	7	9	Jalisco
	124	2	1.6	Nuevo León
	864	115	13.3	Ciudad de México
Chorizo	50	18	36	Jalisco
Longaniza	50	24	48	Jalisco
Albumina de huevo	400	0	0	Ciudad de México
	400	0	0	Ciudad de México
Cascará de huevo	180	1	0.6	Coahuila, Chihuahua, Hidalgo, Nuevo León, Querétaro, Puebla
	100	3	3	Jalisco
Yema de huevo	400	1	0.25	Ciudad de México
	100	0	0	Jalisco
Huevo líquido	180	1	0.6	Coahuila, Chihuahua, Hidalgo, Nuevo León, Querétaro, Puebla
	629	7	1.1	Tamaulipas
Queso	33	10	30.3	Hidalgo
	200	54	27	Jalisco
Almeja	260	29	11.2	Veracruz
Pescado	61	0	0	Hidalgo
	147	1	0.7	Tamaulipas
Pulpo	549	64	11.7	Campeche
Camarón	60	0	0	Sinaloa

(Bautista-De León, Gómez-Aldapa, Rangel-Vargas, Vázquez-Barrios, & Castro-Rosas, 2013; Cárdenas, Molina, Heredia, & García, 2013; Casas *et al.*, 2005; Castillo, Villarruel-López, Navarro-

Hidalgo, Martínez-González, & Torres-Vitela., 2006; Castro-Rosas *et al.*, 2011; Cerna-Cortes, Gómez-Aldapa, Rangel-Vargas, Ramírez-Cruz, & Castro-Rosas, 2013; Estrella-Gómez, Escalante-Réndiz, González-Burgos, Sosa-Cordero, & Rojas-Herrera, 2016; Gómez-Aldapa, Rangel-Vargas, Bautista-De León, & Castro-Rosas, 2014; Gómez-Aldapa, Rangel-Vargas, & Castro-Rosas, 2013; Leal-Cervantes, Arvizu-Medrano, Martínez-Peniche, Martínez-Gonzales, & Hernandez-Iturriaga., 2018; Miranda *et al.*, 2009; Nayarit-Ballesteros *et al.*, 2016; Perez-Montaña *et al.*, 2012; Quiñones-Ramírez, Vázquez-Salinas, Pedroche, Moreno-Sepúlveda, & Rodas-Suárez, 2000; Quiroz-Santiago *et al.*, 2009; Ragazzo-Sanchez *et al.*, 2009; Rangel-Vargas *et al.*, 2015; Rodriguez-Ceniceros, Gomez-Hernandez, & Vazquez-Sandoval, 2016; Torres-Vitela *et al.*, 2013; M. R. Torres-Vitela *et al.*, 2012; Villalpando-Guzmán *et al.*, 2017a; Zaidi *et al.*, 2006)

### **2.2.3.2 Comportamiento de *S. enterica* en el hogar asociado a los patrones de preparación y consumo**

Estudios epidemiológicos en Europa, Norte América, Australia y Nueva Zelanda reportan que hasta el 87 % de los brotes y casos por el consumo de alimentos se deben a las inapropiadas prácticas de manipulación de alimentos en el hogar. Dada esta información en este estudio se plantea evaluar la exposición de *S. enterica* en alimentos en el hogar.

Después de comprar un alimento, el consumidor puede prepararlo o almacenarlo para su posterior preparación. En el último caso, si el consumidor almacena el producto, dependiendo del tipo de producto y las condiciones a las cuales esté sea almacenado podría influir en el desarrollo del patógeno. Alimentos con baja actividad de agua, ácidos, con baja disponibilidad de nutrientes y/o empacadas y procesados térmicamente como frutos secos, yogurt, chorizo, frutas y hortalizas intactas sin daño en su superficie, entre otros, no propician el desarrollo de *S. enterica*, sin embargo, el microorganismo puede llegar a sobrevivir (Álvarez-Ordóñez, Valdés, Bernardo, Prieto, & López, 2013; Beuchat & Mann, 2014; Cirone *et al.*, 2013; Da Silva Felício *et al.*, 2015; EFSA, 2012; Hew, Hajmeer, Farver, Glover, & Cliver, 2005b; Podolak, Enache, Stone, Black, & Elliott, 2010; Savran, Pérez-Rodríguez, & Kadir Halkman, 2018).

En el caso de las condiciones de almacenamiento, la temperatura es uno de los factores fundamentales. *S. enterica* puede llegar a desarrollar a partir de los 5.2 °C (FDA, 2012), por lo cual sí el patógeno se encuentra en un alimento que es almacenado a temperaturas superiores a esta se podría propiciar el desarrollo. Con

la finalidad de estimar el desarrollo de este microorganismo se han generado modelos predictivos en diferentes alimentos. En la Tabla 6 se muestran algunos modelos predictivos secundarios que se han generado para *S. enterica*, que pueden permitir evaluar el comportamiento a diferentes condiciones de acuerdo con los hábitos de la población.

**Tabla 6.** Modelos predictivos secundarios del desarrollo de *S. enterica* en diferentes alimentos.

Alimento	Modelo	Parámetros estimados	Referencia
Carne de puerco	$\sqrt{\mu \max} = b(T - T_{\min})$	b = 0.0356 T <sub>min</sub> °C = 2.33	Møller <i>et al.</i> , 2013
Carne de pollo	$\mu \max = \alpha(T - T_{\min})^2(1 - \exp(b(T - T_{\max})))$	α=0.0019 T <sub>min</sub> = 3.35 b=0.29 T <sub>max</sub> =48.01	Juneja <i>et al.</i> , 2007
Carne de res	$\mu \max = \alpha(T - T_{\min})^2(1 - \exp(b(T - T_{\max})))$	α=6.98X10 <sup>-4</sup> T <sub>min</sub> =0.55 b=0.506 T <sub>max</sub> = 46.96	Juneja, Melendres, Huang, Subbiah, & Thippareddi, 2009
Jamón	$\sqrt{AGR} = \alpha + \beta_1 (\text{lactate}) + \beta_2(T) + \beta_3 (\text{lactate} * T) + \beta_4 (\text{lactate})^2 + \beta_5(T)^2$	α= 0.092 β1=-0.183 β2= 0.047 β3= 0.004 β4= 0.013 β5=-0.001	Hwang, Sheen, & Juneja, 2011
Salchicha	$\ln(\mu) = b_0 + b_1T + b_2T^2$	b <sub>0</sub> = -12.67 b <sub>1</sub> =0.6535 b <sub>2</sub> =-0.009919	Oscar, 2008
Aguacate	$\sqrt{\mu \max} = b(T - T_{\min})$	Pulpa b = 0.0165 T <sub>min</sub> °C = 2.92	Rezende, Crucello, Moreira, Silva, & Sant'Ana, 2016
Papaya	$\sqrt{\mu \max} = b(T - T_{\min})$	Pulpa b = 0.03 T <sub>min</sub> °C = 6.14	(Rezende <i>et al.</i> , 2016)

Sandía	$\sqrt{\mu \max} = b(T - T_{min})$	Pulpa b = 0.031 T <sub>min</sub> °C = 3.86	Rezende <i>et al.</i> , 2016
Melón	$\sqrt{\mu \max} = b(T - T_{min})$	Pulpa b = 0.025 T <sub>min</sub> °C = 1.9	Rezende <i>et al.</i> , 2016
Hortalizas de hoja	$\sqrt{\mu \max} = b(T - T_{min})$	Piel b = 0.0235 T <sub>min</sub> °C = 1.66	Mishra, Guo, Buchanan, Schaffner, & Pradhan, 2017
Pepino	$\sqrt{\mu \max} = b(T - T_{min})$	b=0.020 T <sub>min</sub> °C = 0.57	Jung, 2018
Camarón	$\sqrt{\mu \max} = k(T - T_{min})^{0.5058}(X - X_{min})^{4.9830}$	b=0.0297 T <sub>min</sub> =6.5185 k=3x10 <sup>-7</sup> T <sub>min</sub> = 6.0 X=12.8	Zhou, Sheen, Pang, Liu, & Yam, 2015
Ostras	$\sqrt{\mu \max} = \alpha(T - T_{min})^{0.075}(1 - \exp(b(T - T_{max})))$	α= 0.083 b=0.313 T <sub>min</sub> (°C) = 4.99 T <sub>max</sub> (°C) = 48.05	Fang, Huang, Liu, Mei, & Chen, 2015

En el caso de la preparación y el consumo existen algunos hábitos que podrían incrementar el riesgo de exposición, como por ejemplo (Carrasco, Morales-Rueda, & García-Gimeno, 2012; Gkana, Lianou, & Nychas, 2016; Hillers, Medeiros, Kendall, Chen, & DiMascola, 2003; Ravishankar, Zhu, & Jaroni, 2010a; Snary *et al.*, 2016; Swart, van Leusden, & Nauta, 2016):

- Consumo de huevos crudos
- Consumo de jugos, leche y productos lácteos no pasteurizados
- No cocinar a adecuadas temperaturas la carne (res, puerco, pollo, pescado) y el huevo
- Falta de lavado o lavado inadecuado de cuchillos, tablas de picar y superficies de contacto con los alimentos que puedan producir una contaminación cruzada
- Falta de lavado o lavado inadecuado de manos antes y después de la manipulación de alimentos

La contaminación cruzada es uno de los principales factores de riesgo en el hogar y tienden a incrementar la exposición; este mecanismo de contaminación además de depender de los hábitos de preparación de alimentos también es afectado por las superficies que se emplean. En el caso de *S. enterica* se han evaluado algunos escenarios de contaminación cruzada (Tabla 7).

**Tabla 7.** Tasas de transferencia de *S. enterica* entre alimentos y superficies.

Escenario	Características	Tasa de transferencia (%)	Referencia
De filetes de res a superficie	Plástico	0.58 0.01	
De filetes de res a superficie	Acero	0.45 ± 0.006	
De filetes de res a superficie	Madera	1.57 ± 0.01	
De filetes de res a superficie	Plástico/Enjuagada con agua	0.02 ± 0.002	
De filetes de res a superficie	Acero/Enjuagada con agua	0.09 ± 0.009	
De filetes de res a superficie	Madera/Enjuagada con agua	0.13 ± 0.001	
Superficie a jitomates	Plástico	26.92 ± 0.27	Gkana <i>et al.</i> , 2016
Superficie a jitomates	Acero	86.98 ± 0.75	
Superficie a jitomates	Madera	85.98 ± 0.86	
Superficie a jitomates	Plástico/ Enjuagada con agua	37.90 ± 0.39	
Superficie a jitomates	Acero/ Enjuagada con agua	92.13 ± 0.92	
Superficie a jitomates	Madera/ Enjuagada con agua	52.08 ± 0.66	
Esponja a superficie	Alta concentración/Acero	29 ± 23	
Esponja a superficie	Moderada concentración (acero)	21 ± 8	
Superficie a pepinos	Inmediatamente Ejerciendo presión/Acero	105 ± 26	Kusumaningrum, Riboldi, Hazeleger, & Beumer, 2003
Superficie a pepinos	15 min después /Ejerciendo presión/Acero	90 ± 27	
Superficie a pepinos	Inmediatamente/Sin ejercer presión/Acero	65 ± 21	
Superficie a pepinos	15 min después/Sin ejercer presión/Acero	50 ± 18	
Superficie a pollo rostizado	Inmediatamente/Ejerciendo presión/Acero	94 ± 42	
Superficie a pollo rostizado	15 min después /Ejerciendo presión/Acero	55 ± 21	
Superficie a pollo rostizado	Inmediatamente/Sin ejercer presión/Acero	49 ± 21	
Superficie a pollo rostizado	15 min después/Sin ejercer presión/Acero	32 ± 9	
Pollo a superficie	Media	1.58	Kusumaningrum, van Asselt, Beumer, & Zwietering, 2004
Pollo a superficie	Peor escenario	2.76	
Superficie a ensalada	Media	34.8	
Superficie a ensalada	Peor escenario	75.6	
Cuchillo a mango	Inoculo alto	0.02	Penteado, de Castro, & Rezende, 2014
Cuchillo a mango	Inoculo moderado	0.12	
Chuchillo a mango	Inoculo bajo	0.18	
Perejil a perejil	Picado en tablas /Inoculo bajo	60 (2 a 100)	Faour-Klingbeil, Kuri, & Todd, 2016
Perejil a perejil	Picado en tablas /Inoculo bajo/Enjuagado con agua	64 (2 a 100)	

Perejil a perejil	Picado en tablas /Inoculo alto	1.2 (0.01 a 25)	
Perejil a perejil	Picado en tablas /Inoculo alto/Enjuagado con agua	1.4 (0.05 a 7.5)	
Lechuga a agua de lavado	Tratamiento de lavado	2.6 ± 1.7	
Agua de lavado a col	Tratamiento de lavado	23.0 ± 6.9	
Agua de lavado a jitomate	Tratamiento de lavado	1.3 ± 0.8	
Lechuga a superficie	Plástico	4.9 ± 1.7	Kuan <i>et al.</i> , 2017
Superficie a col	Plástico	26.2 ± 11.0	
Superficie a jitomate	Plástico	17.5 ± 0.2	
		0.11 ± 0.02	
Pollo a cuchillo	Acero	2.44 ± 0.20	
		0.4 ± 0.23	
		3.6 ± 1.31	
		0.05 ± 0.01	
Pollo a superficie	Plástico /Cortando con cuchillo	1.08 ± 0.27	
		0.33 ± 0.04	
		1.2 ± 0.39	
		0.05 ± 0.1	
Pollo a superficie	Madera /Cortando con cuchillo	1.39 ± 0.19	
		3.48 ± 1.59	
		1.83 ± 0.01	
		0.20 ± 0.05	Sarjit & Dykes, 2017
Pollo a tijeras	Acero	0.12 ± 0.03	
		1.47 ± 0.33	
		0.73 ± 0.16	
		0.03 ± 0.00	
Pollo a superficie	Plástico/Cortando con tijeras	0.13 ± 0.03	
		1.47 ± 0.33	
		0.14 ± 0.01	
		0.02 ± 0.00	
Pollo a superficie	Madera/Cortado con tijeras	0.40 ± 0.23	
		0.86 ± 0.58	
		0.93 ± 0.16	
Pollo crudo a superficie	Madera/Inoculo bajo	7.4 ± 5.3	Zhu <i>et al.</i> , 2017
Superficie a pepino	Madera /Inoculo bajo	16.3 ± 5.3	
Cuchillo a pepino	Acero /Inoculo bajo	8.1 ± 7.9	
Pollo crudo a manos a pepino	Sin lavado de manos /Inoculo bajo	6.6 ± 6.1	
Pollo crudo a superficie	Madera/Inoculo medio	21.0 ± 14.8	
Superficie a pepino	Madera /Inoculo medio	27.8 ± 11.3	
Cuchillo a pepino	Acero /Inoculo medio	8.5 ± 7.6	
Pollo crudo a manos a pepino	Sin lavado de manos /Inoculo medio	18.0 ± 7.1	
Pollo crudo a superficie	Madera/Inoculo alto	31.1 ± 15.7	
Superficie a pepino	Madera /Inoculo alto	37.1 ± 4.5	
Cuchillo a pepino	Acero /Inoculo alto	17.4 ± 15.2	
Pollo crudo a manos a pepino	Sin lavado de manos /Inoculo alto	18.8 ± 9.5	
Pollo crudo a superficie	Plástico	1.25 ± 0.9	
Pollo crudo a cuchillo	Acero	0.05 ± 0.005	
Superficie y cuchillo a lechuga	Plástico/Acero	45.62 ± 10.11	Ravishankar <i>et al.</i> , 2010a
Pollo crudo a superficie	Plástico /Enjuagada con agua caliente	0.017 ± 0.01	
Pollo crudo a cuchillo	Acero/Enjuagada con agua caliente	0.018 ± 0.007	
Superficie y cuchillo a lechuga	Enjuagada con agua caliente Plástico/Acero	74.74 ± 6.70	

## 2.2.4 Caracterización del riesgo

En México, la evaluación de riesgos ha sido una herramienta poco explorada, hasta nuestro conocimiento únicamente un trabajo de maestría ha evaluado el riesgo de enfermarse de salmonelosis por el consumo de hortalizas en el país (Castela-Farias, 2015). Sin embargo, a nivel mundial día con día esta herramienta, ha tomado importancia. En la Tabla 8 se muestran algunas de las últimas evaluaciones de riesgo de *S. enterica* en diferentes alimentos realizadas en los últimos diez años.

**Tabla 8.** Evaluación cuantitativa del riesgo de enfermarse por *S. enterica*

Alimento	Lugar	Características	Referencia
Carne de pollo	Canadá	De la granja al consumo	Collineau <i>et al.</i> , 2020
Carne de pollo	Estados Unidos	De la granja al consumo	Akil & Ahmad, 2019
Pistaches	Estados Unidos	Desde la producción hasta al consumo	Casulli, Calhoun, & Schaffner, 2019
Nueces	Estados Unidos	Desde la producción hasta al consumo	Farakos <i>et al.</i> , 2019
Pistaches	Estados Unidos	Desde la producción hasta al consumo	Farakos <i>et al.</i> , 2018
Carne de puerco	Australia	Desde punto de venta al consumo	Gurman, Ross, & Kiermeier, 2018
Carne de pollo	Corea de Sur	Carne de hamburguesa Desde punto de venta al consumo	Jeong, Chon, Kim, Song, & Seo, 2018
Hortalizas de hoja listas para el consumo	Brasil	Desde la producción hasta al consumo	Maffei, Sant'Ana, Franco, & Schaffner, 2017
Carne de puerco	Vietnam	Desde punto de venta al consumo	Dang-Xuan <i>et al.</i> , 2017
Nueces pecanas	Estados Unidos	Desde la producción hasta al consumo	Farakos <i>et al.</i> , 2017
Pistaches	Estados Unidos	Desde la producción hasta al consumo	Lambertini, Barouei, Schaffner, Danyluk, & Harris, 2017
Carne de puerco	Unión Europea	De la granja al consumo	Snary <i>et al.</i> , 2016
Productos de carne de puerco (carne de puerco en cubos, carne para hamburguesa y salchichas fermentadas)	Unión Europea	Desde la producción hasta al consumo	Swart <i>et al.</i> , 2016

Leche cruda	Italia	Desde punto de venta al consumo	iacometti <i>et al.</i> , 2015)
Carne de pollo	Canadá	Desde punto de venta al consumo	Smadi & Sargeant, 2013
Carne de pollo	Senegal	Desde punto de venta al consumo	Pouillot <i>et al.</i> , 2012
Salchicha de puerco	Brasil	Desde punto de venta al consumo	Mürmann, Corbellini, Collor, & Cardoso, 2011
Hortalizas de hoja listas para el consumo	Unión Europea	Desde la producción hasta al consumo	Tromp, Rijgersberg, & Franz, 2010

Dirección General de Bibliotecas UNQ

### 3 JUSTIFICACIÓN

Debido a los numerosos casos de NTS en México, y al desconocimiento de los alimentos implicados en estos, es necesario emplear nuevas herramientas como ECRM, que ayuden determinar cuáles son los alimentos con una mayor probabilidad de enfermar de salmonelosis a la población mexicana del centro del país. Esta información permitirá establecer prioridades de los sistemas de control, y a largo plazo disminuir la incidencia de esta enfermedad.

Para poder desarrollar una estimación precisa del riesgo, es necesario recopilar, generar e integrar información de nuestro país sobre la triada huésped-alimento-patógeno, como la edad, estado de salud, los hábitos de consumo y preparación de alimentos de la población, la prevalencia y concentración de *S. enterica* en diferentes alimentos, así como la variabilidad intra-especie de las cepas de *S. enterica* que están circulando en el país y que pueden tener un efecto en la caracterización del peligro, la evaluación de la exposición y la caracterización del riesgo.

La información generada en este proyecto será de gran utilidad para las autoridades gubernamentales (COFEPRIS y SENASICA), ya que representa una herramienta de gran apoyo para la toma de decisiones objetivas que ayuden al diseño de estrategias de control adecuadas, encaminadas a disminuir los casos de salmonelosis asociados al consumo de alimentos en México.

#### 4 HIPÓTESIS

La variabilidad intra-especie de la HG y HF de cepas de *S. enterica* aisladas de alimentos de una región en particular influye directamente en el riesgo de enfermar de salmonelosis; la inclusión de ambas características en un modelo ECRM genera estimaciones más realistas.

Dirección General de Bibliotecas UAQ

## **5 OBJETIVOS**

### **5.1 Objetivo general**

Evaluar la variabilidad intra-especie de cepas de *S. enterica* aisladas de alimentos de acuerdo con su HG y HF, e incluirla en un modelo de evaluación cuantitativa del riesgo de enfermar de salmonelosis asociado al consumo de alimentos en la región centro de México.

### **5.2 Objetivo específico**

- 1) Evaluar la exposición de la población del centro de México a *S. enterica* en alimentos seleccionados.
- 2) Realizar una mejora en la identificación del peligro de *S. enterica* tomando en cuenta la HG y HF de las cepas que circulan en el centro de México.
- 3) Construir un modelo de la evaluación cuantitativa del riesgo de enfermar de *S. enterica* incluyendo la variabilidad intra-especie de la HG y HF.

## 6 METODOLOGÍA

### 6.1 Evaluación de los hábitos de consumo y prácticas de manipulación de alimentos en el hogar y evaluación de la percepción de exposición a *S. enterica* de la población del centro del país

Se realizó una encuesta en línea (Formularios de Google) para evaluar las preferencias, hábitos de consumo y prácticas de manipulación de alimentos de la población del centro del país (Aguascalientes, Colima, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, Michoacán, Morelos, Nayarit, Querétaro, Estado de México y Ciudad de México), así como la percepción de la exposición a *S. enterica*. La encuesta se realizó mediante un muestreo no probabilístico. El tamaño de muestra se calculó empleando la Ecuación 1 (poblaciones infinitas), donde Z es el nivel de confianza (99%); p la probabilidad de que un evento suceda, (0.5); q la probabilidad de que un evento nos suceda (0.5); y d la precisión (mínimo será de 0.05). Por lo que el mínimo de encuestas a realizar fueron 666.

$$n = \frac{Z_a^2 \times p \times q}{d^2} \quad \text{Ecuación 1}$$

#### 6.1.1 Diseño de la encuesta

La encuesta estuvo compuesta de cuatro secciones. La primera sección contenía preguntas demográficas (sexo, edad, nivel de estudios, ocupación, estado de residencia y autopercepción de padecimiento de enfermedades gastrointestinales y crónicas degenerativas). La segunda sección tenía preguntas sobre los hábitos de consumo de cinco grupos de alimentos: 1) carne (pollo, res, puerco, pavo); 2) embutidos (jamón, salchicha, tocino, chorizo); 3) frutas y hortalizas (frutas cítricas, frutas de semilla, frutas tropicales, frutillas, frutas secas, hortalizas de tallo, raíz o tubérculo, hortalizas de fruta, hortalizas de hoja); 3) productos lácteos (leche, yogurt, queso, crema); y 5) mariscos (pescado, camarón, atún, mariscos de concha). La tercera sección mostraba las prácticas de manipulación de los alimentos en el hogar, como es el caso de las condiciones de almacenamiento de alimentos y prácticas comunes durante la preparación de los mismos. Por último, la

cuarta sección tenía preguntas sobre la autopercepción de haber padecido salmonelosis, así como características sobre el padecimiento (Apéndice 1).

### **6.1.2 Análisis estadísticos**

La confiabilidad de la encuesta fue determinada mediante el coeficiente alfa de Cronbach empleando el software Minitab versión 18. Se considera una encuesta confiable cuando el valor del coeficiente alfa de Cronbach es igual o superior a 0.7.

La asociación entre algunas preguntas se realizó mediante tablas de contingencia y la prueba de Pearson.

## **6.2 Priorización del riesgo de grupos de alimentos asociados *S. enterica* en el centro de México**

Se realizó la priorización de los 25 alimentos mencionados en el inciso 6.1, de acuerdo con su asociación con *S. enterica*. La priorización se realizó empleando el Análisis de Decisiones de Criterios Múltiples (ADCM), el cual estuvo compuesto por 4 criterios. Criterio 1: probabilidad de la exposición de *S. enterica* en el hogar a través del consumo de alimentos ( $Pe$ ); criterio 2: potencial de desarrollo de *S. enterica* durante el almacenamiento en el hogar ( $Pd$ ); criterio 3: consumo per cápita ( $Pp$ ); criterio 4: probabilidad de que un brote de *S. enterica* sea causado por un alimento en específico ( $Pb$ ).

### **6.2.1 Criterio 1: probabilidad de la exposición de *S. enterica* en el hogar a través del consumo de alimentos ( $Pe$ )**

$Pe$  se estimó usando la información de la prevalencia de *S. enterica* y las prácticas de consumo que pueden ocasionar una contaminación cruzada o permitir la sobrevivencia de este patógeno para cada categoría. Para la prevalencia se buscaron estudios del 2000 al 2019 sobre la frecuencia de *S. enterica* en los alimentos mencionados anteriormente en México, en caso de no encontrar estudios en el país se empleó información de otros países. La prevalencia empleada se

obtuvo dividiendo el número total de muestras positivas sobre el número total de muestras analizadas en todos los estudios (Tabla 9).

**Tabla 9.** Prevalencia de *S. enterica* por en cada alimento.

Grupo de alimentos	Tipo de alimento	Prevalencia % *
Carne	Puerco	21 (364/1734)
	Pavo	14.1 (117/829)
	Pollo	32.4 (452/1395)
	Res	16.9 (458/2705)
Productos cárnicos	Chorizo	52.9 (127/240)
	Jamón	4.4 (112/2539)
	Salchicha	4.0 (39/982)
	Tocino	4.5 (11/247)
Frutas and vegetables	Frutas cítricas (jugo y superficie de naranja)	10.9 (19/175)
	Frutas de semilla (manzana, chirimoya)	2.5 (6/240)
	Frutas tropicales (mango, melón)	5.0 (18/360)
	Frutillas (fresas)	0.7 (1/143)
	Frutas secas (cacahuete, nueces, pasas)	33.8 (71/210)
	Hortalizas de tallo, raíz y tubérculo (papa, cebolla, betabel)	1.7 (5/300)
	Hortalizas de hoja (cilantro, lechuga, perejil, espinaca, verdolaga, espinacas, berros)	7.8 (62/800)
	Hortalizas de inflorescencia (coliflor, brócoli)	9 (18/200)
	Hortalizas de fruta (pimiento, chiles, jitomate, calabacita)	7.5 (77/1025)
	Productos lácteos	Crema
Leche		3.0 (7/231)
Queso		16.8 (77/459)
Yogurt		0 (0/224)
Mariscos	Atún	0 (0/100)
	Camarón	13.8 (18/130)
	Mariscos de concha (almeja)	11.2 (29/260)
	Pescado	0.5 (1/208)

\*Número de muestras positivas/número total de muestras (Ahmed & Shimamoto, 2014; Busani *et al.*, 2005; Cabedo, Picart, & Teixidó, 2008; Casalnuovo, Brindisi, Rippla, & Ceniti, 2018; Castillo *et al.*, 2004; Chekol & Ashenafi, 2009; Cook *et al.*, 2009; Diaz De Aguayo, Leon Duarte, & Montes De Oca Canastillo, 1992; Escartin *et al.*, 1999; FDA, 2001; Godínez-Oviedo *et al.*, 2019; Kegode, Doetkott, Khaitsa, & Wesley, 2008; Khaitsa, Kegode, & Doetkott, 2007; Kim *et al.*, 2017; Leyva-Castillo, Cisneros-Despaigne, Valdés-Amey, Nolasco-Charón, & Pérez-Rodríguez, 1998; Parrilla-Cerrillo, Saldade-Castañeda, & Nicoli-Tolosa, 1978; Sartí-Gutiérrez, Parrilla-Cerrillo, Saldade-Castañeda, & Rodríguez-Peralta, 1989; Tesfaw *et al.*, 2013)

Para cada grupo de alimentos se plantearon diversos escenarios tomando en cuenta las prácticas de manipulación riesgosas más asociadas a cada uno de los grupos de alimentos (Carrasco *et al.*, 2012; Gkana *et al.*, 2016; Hillers *et al.*, 2003; Ravishankar, Zhu, & Jaroni, 2010b; Snary *et al.*, 2016):

- 1) Carne cruda
  - a. Escenario 1 (E1): Adecuada cocción, pero posterior contaminación cruzada entre carne cruda y cocida.
  - b. Escenario 2 (E2): Inadecuada cocción de carne molida, y posterior contaminación cruzada entre carne cruda y cocida.
  - c. Escenario 3 (E3): Inadecuada cocción de carne molida, pero sin posterior contaminación cruzada entre carne cruda y cocida.
- 2) Productos cárnicos
  - a. Escenario 1 (E1): Consumo de productos cárnicos directo del empaque sin cocinar en el hogar.
- 3) Frutas y hortalizas
  - a. Escenario 1 (E1): Consumo de frutas y hortalizas crudas sin ningún tratamiento de lavado y/o desinfección.
  - b. Escenario 2 (E2): Consumo de frutas y hortalizas crudas sin ningún tratamiento de lavado y/o desinfección, y posterior contaminación cruzada entre carne cruda y los productos hortofrutícolas.
  - c. Escenario 3 (E3): Consumo de frutas y hortalizas lavadas y/o desinfectadas, pero con una posterior contaminación cruzada entre carne cruda y los productos hortofrutícolas.
  - d. Escenario 4 (E4): Consumo de frutos secos como productos listos para el consumo.
- 4) Productos lácteos
  - a. Escenario 1 (E1): Consumo de productos lácteos sin pasteurizar.
- 5) Mariscos
  - a. Escenario 1 (E1): Consumo de mariscos crudos.
  - b. Escenario 2 (E2): Consumo de pescado cocido, pero con posterior contaminación cruzada entre el pescado crudo y cocido.

En la Tabla 10 se muestra cómo se calcularon los escenarios, y en la Tabla 11 los parámetros con sus distribuciones que se utilizaron para estimar la probabilidad de que cada uno de ellos ocurra.

La probabilidad total de la exposición a *S. enterica* en el hogar para cada alimento se calculó sumando la probabilidad de cada uno de los escenarios planteados. Estas probabilidades fueron generadas mediante la simulación de Monte Carlo (10000 interacciones) usando el programa @Risk (versión 6.1, Palisade Corporation, Nueva York, EUA).

Un análisis de regresión de coeficiente se realizó para evaluar el efecto de cada uno de los factores de riesgo sobre la probabilidad total.

**Tabla 10.** Estimación de la probabilidad de que cada escenario ocurra.

Grupo de alimento	Alimento	Escenario	Probabilidad de que cada escenario ocurra	
Carne fresca	Carne entera	E1	$(1-Fmg) * (Occ1\_w)$	
			$(1-Fmg) * (Occ1\_rw)$	
			$(1-Fmg) * (Occ1\_nc)$	
	Carne molida	E1	E1	$(Fmg) * (1-Puc) * (Occ1\_w)$
				$(Fmg) * (1-Puc) * (Occ1\_rw)$
				$(Fmg) * (1-Puc) * (Occ1\_nc)$
		E2	E2	$(Fmg) * (Puc) [(P) + (Occ1\_w)]$
				$(Fmg) * (Puc) [(P) + (Occ1\_rw)]$
				$(Fmg) * (Puc) [(P) + (Occ1\_nc)]$
E3	E3	$(Fmg) * (Puc) * (P)$		
Productos cárnicos	Todos	E1	$(P) * (Fcp)$	
Frutas y Hortalizas	Todas excepto frutos secos	E1	$(P) * (Fcr1) * (Fwdt) * (1-Pcov)$	
			$(Fcr1) * (Fwdt) * (Pcov) * [(P)+(Occ2\_w)]$	
		E2	$(Fcr1) * (Fwdt) * (Pcov) * [(P)+(Occ2\_rw)]$	
			$(Fcr1) * (Fwdt) * (Pcov) * [(P)+(Occ2\_nc)]$	
	E3	E3	$(Fcr1) * (Pcov) * (Occ2\_w)$	
			$(Fcr1) * (Pcov) * (Occ2\_rw)$	
			$(Fcr1) * (Pcov) * (Occ2\_nc)$	
	Frutos secos	E4	$(P) * (Fcr1)$	
Productos lácteos	Todos	E1	$(P) * (Pup)$	
Mariscos	Todos	E1	$(P) * (Fcr2)$	
			$(1-Fcr2) * (Occ1\_w)$	
	Pescado	E2	$(1-Fcr2) * (Occ1\_rw)$	
			$(1-Fcr2) * (Occ1\_nc)$	

**Tabla 11.** Parámetros empleados para evaluar la probabilidad de exposición a *S. enterica* en el hogar.

Parámetros	Símbolo	Características y suposiciones	Distribución/Valor	Referencia
Prevalencia de <i>S. enterica</i>	<i>P</i>	Prevalencia del patógeno en cada producto	Distribución Beta ( $\alpha 1, \alpha 2$ )	Tabla 9
Prevalencia de <i>S. enterica</i> en pescado y carnes	<i>Pm</i>	Prevalencia general del patógeno en pescado y carnes	Distribución Beta (1392+1, 6871-1392+1)	Tabla 9
Frecuencia de consumo de carne molida	<i>Fmg</i>	Frecuencia de compra de carne molida, se asume que es el misma de consumo	Distribución Beta Res (234+1, 1378-234+1) Pollo (25+1, 1094-25+1) Pavo (25+1, 687-25+1) Puerco (101+1, 1095-101+1)	Este estudio
Porcentaje de carne no cocida adecuadamente	<i>Puc</i>	Porcentaje de personas que no consumen la carne bien cocida, este porcentaje es asociado con la falta de cocción	Distribución Beta Res (364+1, 1120-364+1) Aves (259+1, 1618-259+1) Puerco (5+1, 100-5+1)	Este estudio Sampers <i>et al.</i> , 2012 Swart <i>et al.</i> , 2016
Frecuencia de productos cárnicos que se consumen sin un tratamiento adicional	<i>Fcp</i>	Frecuencia de productos cárnicos que son consumidos directo del empaque	Distribución Beta Tocino (35+1, 690-35+1) Jamón (716+1, 1170-716+1) Chorizo (18+1, 875-8+1) Salchicha (293+1, 1170-293+1)	Este estudio
Frecuencia de frutas y hortalizas que son consumida cruda	<i>Fcr1</i>	Frecuencia de frutas y hortalizas que son consumidas crudas	Distribución Beta Frutas (1135+1, 1392-1135+1) Hortalizas (732+1, 1916-732+1)	Este estudio
Frecuencia de frutas y hortalizas crudas que son consumidas sin ningún proceso de descontaminación	<i>Fwdt</i>	Frecuencia de frutas y hortalizas crudas que son consumidas sin lavado y/o desinfección	Distribución Beta Frutas (52+1, 1135-52+1) Hortalizas (28+1, 732-28+1)	Este estudio
Porcentaje de personas que solo consumen vegetales	<i>Pcov</i>	Porcentaje de personas que son vegetarianas en México. Se asume que los vegetarianos no están expuestos a contaminación cruzada con carnes crudas	28 %	Nielsen, 2016

Porcentaje de productos lácteos que se consumen sin pasteurizar	<i>Pup</i>	Porcentaje de las personas que compran productos lácteos no pasteurizados o que no saben si están pasteurizados. El porcentaje de compra es asociado al consumo	Distribución Beta Queso (306+1, 1095-306+1) Crema (185+1, 1075-185+1) Leche (88+1, 1082-88+1) Yogur (148+1, 1083-148+1)	Este estudio
Porcentaje de persona que consume mariscos crudos	<i>Fcr2</i>	Frecuencia de mariscos que son consumidos crudos	Distribución Beta Pescado (21+1, 1677-21+1) Atún (107+1, 1221-107+1) Mariscos de concha (100+1, 461-100+1) Camarón (80+1, 1251-80+1)	Este estudio
Porcentaje de preferencia de método para descontaminar superficies en contacto con alimentos	<i>Ppc</i>	Dato obtenido de la media de los porcentajes de preferencia de método de descontaminación para tablas de picar y cuchillo cuando son usadas para cortar dos productos diferentes	Distribución Beta ( $\alpha1$ , $\alpha2$ ) Nuevo (314+1, 1199-314+1) Lavado (463+1, 1199-463+1) Enjuagado con agua (243+1, 1199-243+1) Sin limpiar (180+1, 1199-180+1)	En este estudio
Probabilidad de la presencia de <i>S. enterica</i> después del proceso de descontaminación	<i>Pps</i>	Porcentaje de superficies (cuchillo y tabla de picar) positivas a <i>S. enterica</i> después de ser expuesta al patógeno y recibir un proceso de descontaminación	Nuevo (0) Sin limpiar (0.999,1,1) Distribución Beta Enjuagado con agua (0, 0.5,1) Lavado (0, 0.33,1)	Gkana <i>et al.</i> , 2016
Ocurrencia de contaminación cruzada entre carne y pescado crudo y cocido	<i>Occ1</i>	Occ1_w= lavado Occ1_rw= enjuagado con agua Occ1_nc= sin limpiar	$P^*Ppc^*Pps$	Este estudio
Ocurrencia de contaminación cruzada entre carne y pescado crudo y productos hortofrutícolas	<i>Occ2</i>	Occ2_w=lavado Occ2_rw= enjuagado con agua Occ2_nc= sin limpiar	$Pm^*Ppc^*Pps$	Este estudio

### 6.2.2 Criterio 2: potencial de desarrollo de *S. enterica* durante el almacenamiento en el hogar (*Pd*)

*Pd* de *Salmonella* en cada alimento fue estimado bajo abuso de temperaturas en condiciones de refrigeración usando modelos secundarios de la tasa de crecimiento. El chorizo, yogurt, frutos secos, frutos cítricos, frutillas, y las hortalizas de tallo, raíz y tubérculos fueron excluidos de este criterio debido a que su baja actividad de agua, alta acidez y/o componentes antimicrobianos no permiten el desarrollo de este patógeno (Aguilar-Vázquez, 2015; Álvarez-Ordóñez *et al.*, 2013; Beuchat & Mann, 2014; Christieans, Picgirard, Parafita, Lebert, & Gregori, 2018; Cirone *et al.*, 2013; Gradl, Sun, Larkin, Chirtel, & Keller, 2015; Hew, Hajmeer, Farver, Glover, & Cliver, 2005a; Islam *et al.*, 2004; Knudsen, Yamamoto, & Harris, 2001; Nguyen, Friedrich, & Danyluk, 2014; Sanz-Puig, Pina-Pérez, Martínez-López, & Rodrigo, 2016; Savran *et al.*, 2018; Szczawiński, Szczawińska, Łobacz, & Jackowska-Tracz, 2014; Vandamm, Li, Harris, Schaffner, & Danyluk, 2013).

En el caso de las frutas y hortalizas, con excepción de las hortalizas de hoja, el modelo empleado para la estimación fue de un alimento representativo de cada categoría. Para la selección del alimento representativo se tomó en cuenta la información disponible, así como un alimento cuyo pH estuviera alrededor del promedio de los alimentos de la categoría que representaba. Pera, melón y pepino fueron los alimentos seleccionados para frutas de semilla, frutas tropicales y hortalizas de fruta, respectivamente. Los modelos empleados para evaluar el potencial de desarrollo en los productos hortofrutícolas fueron de los productos picados o rebanados, dado que en estas condiciones los microorganismos pueden desarrollar (Qadri, Yousuf, & Srivastava, 2015), mientras que cuando el producto está entero y sin daños en la mayoría de los casos no permite el desarrollo de *S. enterica* (Castro-Rosas *et al.*, 2010; Da Silva Felício *et al.*, 2015; Delbeke, Ceuppens, Jacxsens, & Uyttendaele, 2015; Eblen *et al.*, 2004; Kenney & Beuchat, 2002; Knudsen *et al.*, 2001; Podolak *et al.*, 2010; Vandamm *et al.*, 2013).

La mayoría de los modelos secundarios empleados en esta categoría se obtuvieron de estudios previos (Tabla 6). Sin embargo, para tocino, frutas de

semilla, hortalizas de inflorescencia, crema, leche, queso y pescado no se encontraron modelos secundarios disponibles, por lo cual se desarrollaron en este estudio (Apéndice 2). Los modelos secundarios realizados fueron polinomiales (regresión lineal) usando el programa DMFit ([www.combase.cc](http://www.combase.cc)).

Finalmente, el potencial de desarrollo se estimó empleando los rango de abuso de temperatura de 7.1 a 15 °C, usando una distribución general segmentada (RiskGeneral (7.1,15, {9.5,13.5}, {0.385,0.145})), esta distribución se generó tomando como base la información reportada por Macías-Rodríguez *et al.* (2013), quienes encontraron que en Guadalajara alrededor de la mitad de los refrigeradores domésticos se encontraban en temperaturas de abuso; el 38.5 % y 14.5 % se encontraban de 7.1 °C a 12 °C, y  $\geq 12.1$  °C, respectivamente. La estimación de este criterio fue realizada mediante simulaciones de Monte Carlo (10000 interacciones) en el programa @RISK (versión 6.1, Palisade Corporation, Nueva York, EUA).

### 6.2.3 Criterio 3: Consumo *per cápita*

Este criterio fue obtenido a partir de la información de la encuesta online. El consumo *per cápita* (CPP) se calculó con la frecuencia de consumo (FC), las porciones de consumo (PC), el peso de la porción (P), y el número de semanas que tiene un año (S) usando la Ecuación 2

$$CPP = FC \times PC \times P \times S \quad \text{Ecuación 2}$$

### 6.2.4 Criterio 4: Probabilidad de que *S. enterica* cause un brote por un alimento

Este criterio se obtuvo del valor del factor  $P_j$ , probabilidad de que un brote de *S. enterica* sea causado por una fuente  $j$ , desarrollado por (Pires, Vieira, Perez, Wong, & Hald, 2012), el cual fue calculado a partir de la información de brotes reportados de 1993 al 2010 en América Latina y el Caribe.

### 6.2.5 Estimación del puntaje final

Los datos para cada alimento estimados en cada criterio fueron normalizados en una escala del 1 al 5 (Tabla 12). El peso (P) de cada criterio fue obtenido mediante un panel de expertos en el área de Inocuidad Alimentaria (Tabla 13). El puntaje final se calculó sumando la multiplicación del peso de cada criterio por su valor normalizado, como se observa en la Ecuación 3.

$$\text{Puntaje final de riesgo} = Pe * P_1 + Pd * P_2 + Pp * P_3 + Pb * P_4 \quad \text{Ecuación 3}$$

**Tabla 12.** Valores y valores normalizados de cada criterio.

Criterio	Valor promedio	Valor normalizado
Probabilidad de la exposición de <i>S. enterica</i> en el hogar a través del consumo de alimentos ( <i>Pe</i> )	< 0.025	1
	≥ 0.025 to < 0.050	2
	≥ 0.050 to < 0.100	3
	≥ 0.100 to < 0.200	4
	≥ 0.200	5
Potencial de desarrollo de <i>S. enterica</i> durante el almacenamiento en el hogar ( <i>Pd</i> )	No desarrolló	1
	> 0.000 to ≤ 0.013	2
	> 0.013 to ≤ 0.025	3
	> 0.025 to ≤ 0.050	4
	> 0.050	5
Consumo per cápita ( <i>Pp</i> )	< 1.00	1
	≥ 1.00 to < 5.00	2
	≥ 5.00 to < 10.00	3
	≥ 10.00 to < 20.00	4
	≥ 20.00	5
Probabilidad de que un brote de <i>S. enterica</i> sea causado por un alimento en específico ( <i>Pb</i> )	0 o no reportado	1
	> 0.00 to < 0.05	2
	≥ 0.05 to < 0.10	3
	≥ 0.10 to < 0.20	4
	≥ 0.20	5

**Tabla 13.** Peso de cada criterio asignado por un panel de expertos en Inocuidad Alimentaria.

Criterio	Peso (%) promedio (95% intervalo de credibilidad)
Probabilidad de la exposición de <i>S. enterica</i> en el hogar a través del consumo de alimentos ( <i>Pe</i> )	35 (20, 60)
<i>Salmonella</i> growth potential during storage at home ( <i>Pd</i> )	23 (10, 40)

<i>Per capita consumption (Pp)</i>	18 (10, 35)
The probability of a <i>Salmonella</i> outbreak caused by the food category ( <i>Pb</i> )	24 (5, 50)

---

La variabilidad e incertidumbre sobre el peso de cada criterio se caracterizó mediante una distribución Beta-Pert, en donde el valor máximo, más probable y mínimo fueron los percentiles del 2.5 %, 50 % y 97.5 % de los datos de los pesos, respectivamente. Simulaciones de Monte Carlo (10000 interacciones) fueron realizadas en @RISK (versión 6.1 Palisade Corporation, Nueva York, EUA).

Finalmente, un análisis de sensibilidad se realizó utilizando el mismo valor del peso para todos los criterios.

### **6.3 Detección y cuantificación de *S. enterica* de jitomate, mango y pollo adquirido en puntos de venta en la región centro de México**

De acuerdo con el ADCM se seleccionaron tres alimentos para detectar, cuantificar y aislar *S. enterica*: mango, jitomate y pollo. Los muestreos se realizaron en los estados de Jalisco, Aguascalientes y Querétaro. En Querétaro los muestreos se realizaron durante el 2018 y 2019, en Aguascalientes en el 2019 y Jalisco durante el 2019 y 2020. Los muestreos de Jalisco fueron realizados por personal del Laboratorio de Inocuidad de Alimentos del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias de la Universidad de Guadalajara, datos que formaran parte de una tesis de maestría; y los muestreos en Aguascalientes por personal del Laboratorio Estatal de Salud Pública de Aguascalientes.

Los muestreos de Jalisco y Querétaro se realizaron en dos periodos, diciembre-febrero, y julio-septiembre, en tres sitios (mercado, supermercado y tiendas de la esquina). El número mínimo de muestras a analizar por alimento por periodo en cada estado se empleó usando la Ecuación 4 (Jarvis, 2007), donde  $P$  es la probabilidad de obtener una muestra positiva (0.999) y la  $d$  la prevalencia en el alimento, la cual depende del tipo de alimento. El valor  $d$  para mango, jitomate y pollo fue de 0.08, 0.10 y 0.32, respectivamente (Cárdenas *et al.*, 2013; Charles-Hernández, Medina-Solís, & Hernández-Romano, 2007; Leal-Cervantes *et al.*, 2018; Miranda *et al.*,

2009; Ragazzo-Sanchez *et al.*, 2009; Rodriguez-Ceniceros *et al.*, 2016; Villalpando-Guzmán *et al.*, 2017a; Zaidi *et al.*, 2006). El mínimo número de muestra a analizar fueron 55, 43 y 12, respectivamente.

$$n = \frac{\log_{10}(1-P_{x>0})}{\log_{10}(1-d)} \quad \text{Ecuación 4}$$

Cada muestra (una pieza de mango, una pieza de jitomate, un filete de pechuga de pollo, o una cuarta parte de una pechuga de pollo) fueron pesados dentro de una bolsa estéril y se les adicionó agua peptonada amortiguada (APA) [10 g de peptona (Neogen Acumedia, Michigan, USA), 5 g de cloruro de sodio (Karal, Aguascalientes, México), 3.5 de fosfato disódico anhidro (Karal, Aguascalientes, México), and 1.5 de fosfato de potasio (Karal, Aguascalientes, México) por litro] en una relación 1:1 (p/v). Las muestras se homogeneizaron mediante masaje manual durante un minuto y se dividieron en dos alícuotas. Los homogeneizados de tomate y mango se dividieron en volúmenes iguales (alícuota 1 y alícuota 2). El mango o tomate se quedó en la alícuota 1. Para los homogeneizados de muestras de pollo se retiraron 33.3 mL y se colocaron en un tubo Falcon (alícuota 2), y el trozo de pollo y el volumen restante conformaron la alícuota 1. En todos los casos, la alícuota 2 se almacenó en refrigeración ( $4 \pm 1$  °C) para la cuantificación adicional de patógenos en muestras positivas. La alícuota 1 fue empleada para la detección de *S. enterica* usando el método para la detección molecular de *Salmonella* 3M™ (MDS) siguiendo las recomendaciones del fabricante. El kit consta de tubos de lisis para la extracción del ADN y microtubos de reacción para la amplificación isotérmica. Brevemente, la alícuota 1 se incubó a 41.5 °C/19 h. De las muestras pre-enriquecidas se transfirieron 20 µL a los tubos de lisis, se colocaron en un bloque térmico a 100 °C por 15 min, y se dejaron enfriar por 10 min. Del tubo de la solución de lisis se transfirieron 20 µL a los microtubos de reacción. Los microtubos se colocaron en el equipo MDS para su detección. Las muestras positivas se confirmaron mediante la metodología de cultivo tradicional propuesta por la FDA (FDA, 2018). Brevemente, se transfirió un mililitro del caldo de preenriquecimiento a 10 mL de caldo de tetracionato (TT, Neogen Acumedia®,

Michigan, EUA), y de 0.1 mL a 10 mL de caldo Rappaport-Vassiliadis (RV, Neogen Acumedia, Michigan, EUA). Los tubos RV y TT se incubaron a 42 y 43 °C, respectivamente, durante 24 h en un baño de agua circulante controlado termostáticamente. Después de la incubación, los tubos se agitaron en un vórtex y las alícuotas se estriaron sobre agar sulfito de bismuto (BS, Neogen Acumedia, Michigan, EUA.) y agar xilosa lisina desoxicolato (XLD, Neogen Acumedia, Michigan, EUA). Todas las placas se incubaron a 35 °C durante 24 h. Las cepas presuntivas a *S. enterica* se confirmaron mediante la detección de un fragmento específico del gen 16s rRNA (MinF: ACGGTAACAGGAAGMAG, MinR: TATTAACCACAACACCT). Para la mezcla de reacción se emplearon 5.0 µL de la mezcla de reacción (Green GoTaq, Promega, Madison, USA), 0.5 µL de MinF (10 µM), 0.5 µL MinR (10 µM), 3.0 µL de agua libre de nucleasas y 1.0 µL de ADN. Las condiciones de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), se realizó en el termociclador TC-512 (Teche, Cambridge, UK), y las condiciones fueron las siguientes: desnaturalización inicial 94 °C/3 min, amplificación de 30 ciclos (desnaturalización 94 °C/20 s, alineación 55 °C/30 s, y extensión 72 °C/30 s), y extensión final 72 °C/2 min. Los productos de la PCR se corrieron en un gel al 2 % de agarosa (Bioline, London, UK) con 0.004 % de SYBER® Safe (Invitrogen, Carlsbad, USA). Los geles fueron revelados en el fotodocumentador EDAS 290 (Kodak ®, Rochester, EUA). Las cepas aisladas de *S. enterica* se conservaron en caldo soya tripticaseína (CST; Difco, Detroit, EUA) con 15 % de glicerol en congelación a -80 °C.

### 6.3.1 Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para determinar si el tipo de alimento, el lugar de muestreo, el sitio de muestreo y el periodo tuvieron un efecto significativo sobre la prevalencia y concentración del patógeno. El análisis estadístico fue realizado en RStudio versión 3.6.2 (RStudio, PBC, Boston, MA).

#### **6.4 Caracterización de la huella genotípica y fenotípica de cepas de *S. enterica* aisladas de jitomate, mango y pollo**

Todas las cepas de *S. enterica* aisladas en el punto anterior y cepas obtenidas de casos clínicos se caracterizaron de acuerdo con su HG y HF. La evaluación genotípica consistió en la determinación de genes de virulencia (virulotipificación), mientras que en la fenotípica se evaluó la resistencia a antibióticos, la capacidad de desarrollo a condiciones ácidas y la formación de biopelículas.

A continuación, se explica cómo se prepararon las cepas empleadas para todos experimentos. Los cultivos de stock de las cepas de *S. enterica* se activaron transfiriendo 20 µL del cultivo a tubos con CST y se incubaron 35 °C por 24 h. Después del tiempo de incubación, se tomó una asada de cada tubo y se estrilaron en tubos de agar base sangre (ABS; Neogen Acumedia, Michigan, EUA) inclinados y se incubaron a 35 °C por 24 h. Los cultivos de trabajo se almacenaron a 4°C. Estos cultivos se renovaron cada 2 meses, siguiendo la metodología antes mencionada. A partir de los cultivos de trabajo se prepararon cultivos frescos tomando una asada de cada uno y se inocularon en tubos con CST, los cuales se incubaron a 35 °C/24 h. Este procedimiento se repitió, pero con un tiempo de incubación de 19 h. Los cultivos frescos se lavaron con solución salina isotónica (SSI; 0.85 % de NaCl) mediante centrifugación a 15,000 x g por 3 min. Este procedimiento se realizó dos veces y finalmente los paquetes celulares se resuspendieron en SSI. Se determinó el recuento inicial de cada cepa empleando agar soya tripticaseína (AST; Neogen Acumedia, Michigan, EUA) y se incubaron las placas a 35 °C/24 h.

##### **6.4.1 Virulotipificación**

Se evaluó la presencia de trece genes de patogenicidad de *S. enterica* presentes tanto en el cromosoma (*hilA*, *agfA*, *orgA*, *sipA*, *sifA*, *sseF*, *sseL*, *invA*, *ssaQ*), en profagos (*sspH1*, *sopE*) y en plásmidos (*spvC*, *pefA*) (Tabla 14). La evaluación se realizó mediante cuatro reacciones de PCR-múltiples, que se estandarizaron y

validaron previ6 a su uso. *S. Typhimurium* ATCC 14028 que contiene *agfA*, *orgA*, *sipA*, *sifA*, *sseF*, *sseL*, *invA*, *ssaQ*, *sspH1*, *pefA* y *spvC*, y *S. Heidelberg* que contiene *agfA*, *orgA*, *sipA*, *sifA*, *sseF*, *sseL*, *invA*, *ssaQ*, *sspH1* y *sopE* se utilizaron como controles positivos. El ADN de las cepas se extrajo por calor a 95 °C por 15 min y se centrifug6 a 15,000 x *g* durante 60 s. Las condiciones de reacci6n y de PCR se muestran en la Tabla 15. El equipo para realizar la amplificaci6n, as6 como el equipo y condiciones de la electroforesis fueron las mismas que se emplearon para la detecci6n del gen 16s rRNA.

**Tabla 14.** Iniciadores para la detecci6n de genes de virulencia de *S. enterica*.

Gen	Iniciadores	Peso (pb)	Referencia
<i>hila</i>	F: GGTTCAATCCGAGAGTCTGCAT R: AGGCCAAAGGGCGCATA	66	Bohez <i>et al.</i> , 2006
<i>invA</i>	F: CGCGCTTGATGAGCTTTACC R: CTCGTAATTCGCCGCCATTG	341	Kim, Ryu, Biswas, & Ahn, 2014
<i>orgA</i>	F: TTTTTGGCAATGCATCAGGGAACA R: GGCGAAAGCGGGGACGGTATT	255	Skyberg, Logue, & Nolan, 2006
<i>sipA</i>	F: CCAGGGGTCGTTAGTGTATTGCGTGAGATG R: CGCGTAACAAAGAACCCGTAGTGATGGATT	550	Skyberg <i>et al.</i> , 2006
<i>spvC</i>	F: ACTCCTTGACACAACCAAATGCGGA R: TGTCTCTGCATTTCGCCACCATCA	571	Chiu & Ou, 1996
<i>sifA</i>	F: TTTGCCGAACGCGCCCCACACG R: GTTGCCTTTTCTTGCGCTTCCACCCATCT	449	Skyberg <i>et al.</i> , 2006
<i>pefA</i>	F: GCGCCGCTCAGCCGAACCAG R: GCAGCAGAAGCCCAGGAAACAGTG	157	Skyberg <i>et al.</i> , 2006
<i>agfA</i>	F: GGATTCCACGTTGAGCATTT R: GTTGTTGCCAAAACCAACCT	313	Smith <i>et al.</i> , 2010
<i>sopE</i>	F: TCAGTTGGAATTGCTGTGGA R: TCCAAAAACAGGAAACACAC	665	Hopkins & Threlfall, 2004
<i>ssaQ</i>	F: GAATAGCGAATGAAGAGCGTCC R: CATCGTGTTATCCTCTGTCAGC	643	Herrero, Rodicio, Gonz6lez-Hevia, & Mendoza, 2006
<i>sseL</i>	F: TTCCGCGACAACCGACCTTTCTAA R: TTCTTGAACCAGACCTTGCGTTGC	169	Peterson <i>et al.</i> , 2010
<i>sseF</i>	F: ATGCGCAAATAATGGTTGAT R: TCAGGCGCGTTAACAGGACG	888	Bhowmick, Devegowda, & Karunasagar, 2011
<i>sspH1</i>	F: TGCAGAAAAAGGGGAATACG R: GCAGCCTGAAGGTCTGAAAC	221	Borriello <i>et al.</i> , 2012

**Tabla 15.** Condiciones de la mezcla de reacción y de los PCR múltiples para la detección de genes de virulencia.

PCR múltiples	Genes de virulencia		Mezcla de Reacción		Condiciones de PCR
<b>M1</b>	<i>pefA</i>	157 pb	Green GoTaq 2X	7.5 µL	94° C/ 3 min 27 ciclos 94 °C/30 s 57 °C/30 s 72 °C/30 s 72 °C/5 min
			pefAF (10 µM)	0.3 µL	
	<i>orgA</i>	255 pb	pefAR (10 µM)	0.3 µL	
			orgAF (10 µM)	0.9 µL	
	<i>invA</i>	341 pb	orgAR (10 µM)	0.9 µL	
			invAF (10 µM)	0.9 µL	
	<i>sipA</i>	550 pb	invAR (10 µM)	0.9 µL	
sipAF (10 µM)			0.9 µL		
		sipaR (10 µM)	0.9 µL		
		DNA	1.5 µL		
<b>M2</b>	<i>hilA</i>	66 pb	Green GoTaq 2X	7.5 µL	94 °C/ 3 min 33 ciclos 94 °C/30 s 57 °C/30 s 72 °C/30 s 72 °C/5 min
			hilAF (10 µM)	0.3 µL	
	<i>sifA</i>	449 pb	hilAR (10 µM)	0.3 µL	
			sifAF (10 µM)	0.9 µL	
	<i>ssaQ</i>	667 pb	sifAR (10 µM)	0.9 µL	
			ssaQF (10 µM)	0.9 µL	
			ssaQR (10 µM)	0.9 µL	
		H <sub>2</sub> O	3.0 µL		
		DNA	1.5 µL		
<b>M3</b>	<i>sseL</i>	169 pb	Green GoTaq 2X	7.5 µL	94°C/ 3 min 40 ciclos 94°C/30s 53°C/45s 72°C/30s 72°C/5 min
			sseLF (10 µM)	0.5 µL	
	<i>sspH1</i>	221 pb	sseLR (10 µM)	0.5 µL	
			sspH1F (10 µM)	1.0 µL	
	<i>sopE</i>	665 pb	sspH1R (10 µM)	1.0 µL	
			sopEF (10 µM)	1.5 µL	
			sopER (10 µM)	1.5 µL	
		DNA	1.5 µL		
<b>M4</b>	<i>agfA</i>	313 pb	Green GoTaq 2X	10 µL	94 °C/ 3 min 47 ciclos 94 °C/30 s 55 °C/50 s 72 °C/30 s 72 °C/5 min
			agfAF (10 µM)	0.95 µL	
	<i>spvC</i>	571 pb	agfAR (10 µM)	0.95 µL	
			spvCF (10 µM)	0.55 µL	
	<i>sseF</i>	888 pb	spvCR (10 µM)	0.55 µL	
			sseFF (10 µM)	2.5 µL	
			sseFR (10µM)	2.5 µL	
		DNA	1.5 µL		

#### 6.4.2 Resistencia a antimicrobianos

Se evaluó la susceptibilidad a 14 antibióticos: amikacina (AK, 30 µg), ampicilina (AMP, 10 µg), carbencilina (CB, 100 µg), cefalotina (CEP, 30 µg), cefoxitina (CFX, 30 µg), ciprofloxacino (CIP, 30 µg), cloranfenicol (CHL, 30 µg), gentamicina (GEN, 10 µg), netilmicina (NET, 20 µg), nitrofurantoina (NFT, 300 µg), norfloxacina (NOF, 10 µg), trimetoprima/sulfametoxazol (SXT, 1.25/23.75 µg), estreptomicina (STR, 10 µg), tetraciclina (TET, 30 µg), empleando el método de difusión en disco en agar Müller-Hilton (Bioxon, Cuautitlán Izcall, México), siguiendo la metodología del Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio (CLSI, 2015, 2017). Los diámetros de las zonas de inhibición se midieron y se clasificaron en resistentes, resistencia intermedia y susceptibles de acuerdo con lo establecido en el CLSI. Se empleó *Escherichia coli* ATCC 25922 como control de calidad. Las cepas fueron clasificadas como MRA cuando fueron resistentes a tres o más antibióticos de al menos tres familias diferentes (Magiorakos *et al.*, 2012).

#### 6.4.3 Evaluación del comportamiento de *S. enterica* a condiciones ácidas

La evaluación del comportamiento de *S. enterica* en condiciones ácidas se evaluó por un método indirecto (turbidimetría) a dos condiciones de acidez: moderada (pH= 5) y severa (pH= 4). Se empleó CST como medio de cultivo el cual fue previamente ajustado con HCl 1 N al pH indicado. Se emplearon microplacas de 96 pozos, y en cada pozo se adicionaron 180 µL de los medios evaluados y posteriormente se inocularon con 20 µL de las cepas a analizar ( $\sim 1 \times 10^5$  UFC/mL). Las microplacas se incubaron a 25 °C durante 30 h. Aproximadamente cada 2 h se midió la densidad óptica a 600 nm en un el espectrómetro Multiskan 60 (Thermo Scientific, Waltham, EUA). Se realizaron dos experimentos independientes con tres replicas cada uno. Con los datos de desarrollo se modelaron curvas de crecimiento empleando tres diferentes modelos (Baranyi y Roberts, Gompertz y Scale Free) en el programa in DMFit v.3.5 ([www.combase.cc](http://www.combase.cc)). Se eligió el mejor modelo evaluando el coeficiente de regresión ajustado ( $R^2$ ) y el error estándar del ajuste (error cuadrático medio ECM). Empleando el mejor modelo se estimaron los parámetros

de desarrollo, fase Lag, que para los métodos turbidímetros es en realidad el tiempo de detección (TD), y la velocidad de desarrollo ( $\mu$ ), de cada una de las cepas a las dos condiciones.

La variabilidad intra-especie de los aislados de *S. enterica* se caracterizó mediante una escala semicuantitativa del desarrollo global de cada cepa. Esta escala se calculó usando dos criterios: el TD y la  $\mu$ . Cada uno de estos criterios se dividió en tres niveles denominados lento, moderado y rápido a los cuales se les asignó un valor numérico 1, 2 y 3, respectivamente. En el caso del TD, en el nivel 1 se encontraron aquellas cepas que tuvieron un valor de TD mayor al de la media  $\pm$  una desviación estándar, en el nivel 2 aquellas cuyo valor de TD estuvo entre la media  $\pm$  una desviación estándar y el nivel tres las cepas que presentaron un valor de TD menor a la media  $\pm$  una desviación estándar. Para el caso de la  $\mu$ , el nivel 1 incluyó las cepas con una  $\mu$  menor a la media  $\pm$  una desviación estándar, en el nivel 2 aquellas con un valor de  $\mu$  entre la media  $\pm$  una desviación estándar y el nivel tres las cepas con un valor de  $\mu$  fue mayor a la media  $\pm$  desviación estándar. La media y desviación estándar de ambos parámetros únicamente fueron calculados con los valores de las cepas de Querétaro y se mantuvieron fijos para caracterizar las cepas provenientes de los otros estados.

El desarrollo global de cada cepa se calculó multiplicando el valor asignado de acuerdo con su TD y la  $\mu$  (Tabla 16). La escala semicuantitativa se dividió en las siguientes categorías: muy lento (puntaje=1), lento (puntaje = 2), moderado (puntaje = 3 o 4), alto (puntaje = 6), muy alto (puntaje =9) y sin desarrollo (puntaje =0).

**Tabla 16.** Niveles de los parámetros empleados para estimar el desarrollo global de los aislados de *S. enterica*.

		Tiempo de detección		
		Rápido (3)	Moderado (2)	Lento (1)
Velocidad de desarrollo	Rápida (3)	9	6	3
	Moderada (2)	6	4	2
	Lenta (1)	3	2	1

#### 6.4.4 Evaluación de la formación de biopelículas

La capacidad de formación de biopelículas de los aislados de *S. enterica* se determinó mediante la metodología propuesta por Beshiru, Igbinosa e Igbinosa (2018) con algunas modificaciones. Brevemente, en una microplaca de 96 pozos se adicionaron 180  $\mu\text{L}$  de CST en cada pozo y cada uno se inoculó con 20  $\mu\text{L}$  de la suspensión de las cepas del patógeno ( $\sim 1 \times 10^5$  UFC/mL). Las microplacas se incubaron por 24, 48 y 72 h. Transcurrido este tiempo se evaluó el desarrollo del patógeno en el espectrofotómetro Multiskan 60 a una absorbancia de 600 nm. Posteriormente, se decantó la placa y se realizaron dos lavados sucesivos con 200  $\mu\text{L}$  de SSI, se adicionaron 200  $\mu\text{L}$  de metanol al 99 % y se dejó actuar por 15 minutos; trascurrido el tiempo se decantó y se adicionaron 200  $\mu\text{L}$  de cristal violeta (0.1 %) (Meyer, Ciudad de México, México), dejando reposar por 5 min. Nuevamente se realizaron dos lavados con 200  $\mu\text{L}$  de agua destilada. La placa se dejó secar y su contenido se solubilizó con 200  $\mu\text{L}$  de ácido acético glacial 30 % (Meyer, Ciudad de México, México) y se midió la absorbancia a 595 nm. Se realizaron tres experimentos independientes con tres réplicas cada uno.

Los aislados de *S. enterica* fueron clasificados de acuerdo a lo propuesto por Stepanović *et al.* (2000) en no formadoras, formadoras débiles, formadoras moderadas y altamente formadoras usando el promedio de  $\text{DO}_{595\text{nm}}$ .

Finalmente, tomando en cuenta la formación de biopelículas a través del tiempo las cepas se clasificaron de acuerdo con su persistencia. Para realizar esta clasificación se emplearon 2 criterios: 1) Tiempo de formación (TF), y 2) Clasificación de la formación de biopelículas (CFB).

La capacidad de persistir (CP) de las cepas de *S. enterica* se calculó empleando la Ecuación 5 donde el valor de TF a las 24, 48 y 72 h fue de 1, 2 y 3, respectivamente, y el valor de la CFB fue de 0 a 3, dependiendo la clasificación obtenida con la metodología anterior.

$$CP = (TF_{24} * CFB_{24}) + [TF_{48} * (CFB_{48} - CFB_{24})] + [TF_{72} * (CFB_{72} - CFB_{48})]$$

Ecuación 5

Las cepas se clasificaron en: no persistentes (puntuación=0), muy baja persistencia (puntuación= 1 o 2), baja persistencia (puntuación= 3 o 4), persistencia moderada (puntuación 5 o 6), persistencia alta (7 o 8) y persistencia muy alta (9).

#### **6.4.5 Análisis estadísticos**

Se realizaron análisis de varianza (ANOVA) y comparaciones de medias con la prueba t de Student y Tukey. También se realizaron asociaciones entre diferentes variables mediante tablas de contingencia y la prueba de Pearson o regresiones lineales. Los análisis estadísticos se realizaron en el programa RStudio 3.6.2 (RStudio, PBC, Boston, MA).

#### **6.4.6 Integración de la información de la huella genotípica y huella fenotípica para la selección de cepas**

Se integró la información de la HG y HF de las cepas mediante un análisis de factores múltiples y posteriormente se realizó una agrupación jerárquica de las cepas en 7 grupos. De cada grupo se seleccionaron cepas para los experimentos subsecuentes.

### **6.5 Evaluación de la variabilidad intra-especie en la probabilidad y severidad de la infección de *S. enterica* en humanos vehiculizada en diferentes matrices**

#### **6.5.1 Evaluación de la variabilidad intra-especie en sobrevivencia de *S. enterica* en condiciones gástricas**

La evaluación de la sobrevivencia de *S. enterica* en condiciones gástricas se desarrolló simulando el comportamiento del patógeno en la fase de la boca y estómago.

Un mililitro de agua destilada estéril se inoculó con 100  $\mu$ L de una suspensión de *S. enterica* ( $1 \times 10^9$  UFC/mL) y se dejó reposar 1 h. Posteriormente se le adicionaron 5 mL de la saliva humana y se homogenizó durante un minuto. La

saliva humana se obtuvo de 3 voluntarios sanos en ayunas, cada uno se enjuagó por 1 min la boca con 5 mL de agua, posteriormente simularon el proceso de masticación con otros 5 mL de agua por otro 1 min. La muestra de saliva se recopiló en cada uno de los pasos, este proceso se repitió 3 veces. Las muestras de saliva de los tres voluntarios se conjuntaron en una sola.

Posteriormente a la mezcla (agua/saliva/*S. enterica*) se le adicionaron 5 mL de jugo gástrico artificial a pH  $2.0 \pm 0.2$  (6.9 mM KCl, 0.9 mM  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 25 mM  $\text{NaHCO}_3$ , 47.2 mM NaCl, 0.1 mM  $\text{MgCl}_2(\text{H}_2\text{O})_6$ , 0.5 mM  $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ , 9.75 mM  $\text{CaCl}_2(\text{H}_2\text{O})_2$  [Karal, Aguascalientes, México], y 0.055 g de pepsina [ $\geq 250$  unidades/mg sólido, Sigma-Aldrich, St. Louis, EUA) y se incubó en un baño con agitación (150 rpm) durante 2 horas a 37 °C.

En cada una de las fases (boca y estomago) se realizó el recuento de *S. enterica*, mediante la técnica de extensión en superficie empleando agar SB (Bioxon, Cuautitlán Izcall, México). Las placas se incubaron a 35 °C por 24 h. Para realizar los recuentos de las cepas que fueron expuestas al jugo gástrico artificial se les adicionó 5 mL de una solución amortiguadora de Krebs-Ringer (118 mM de NaCl, 4.7 mM KCl, 1.2 mM  $\text{MgSO}_4$ , 1.2 mM  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 25 mM  $\text{NaHCO}_3$ , 11 mM Glucosa y 2.5 mM  $\text{CaCl}_2$  [Karal, Aguascalientes, México]) y se ajustaron con NaOH 1 N a  $6.8 \pm 0.2$ . Las soluciones se dejaron reposar 30 min y transcurrido el tiempo se realizaron los recuentos.

Se calcularon las reducciones de cada una de las cepas evaluadas, y se realizó un análisis ANOVA (RStudio versión 3.6.2, PBC, Boston, MA) para determinar si la agrupación, el virulotipo, la MRA, y el origen tenía algún efecto significativo sobre el comportamiento en la simulación gástrica.

### **6.5.2 Reagrupación de las cepas de *S. enterica***

Las cepas que se seleccionaron se reagruparon usando nuevamente un análisis de factores múltiples y una agrupación jerárquico añadiendo la información de su sobrevivencia en condiciones gástricas. Con esta información se clasificaron las cepas en tres niveles de virulencia (alta, moderada, baja) y se seleccionaron dos cepas de cada nivel, una de las cepas MRA y otra no.

### 6.5.3 Evaluación del efecto de la matriz alimentaria en la sobrevivencia de cepas de *S. enterica* en condiciones gástricas

El efecto de la matriz alimentaria (mango, jitomate y pollo) sobre la sobrevivencia de las 6 cepas seleccionadas de *S. enterica* se evaluó empleando la misma metodología del punto 6.5.1. Solo que durante la simulación de la fase del estómago se realizaron recuentos a los 30 s, 30, 60, 90 y 120 min.

Para describir la cinéticas de inactivación de las cepas de *S. enterica* en condiciones gástricas se empleó el modelo de Geeraerd con cola (Geeraerd, Valdramidis, & Van Impe, 2005) (Ecuación 7) cuando fueron vehiculizadas en agua, jitomate y mango, en donde  $N_0$  es la población inicial,  $N_{res}$  es la población residual que representa la cola de sobrevivencia,  $t$  es el tiempo y  $k_{max}$  ( $\text{min}^{-1}$ ) es la tasa específica de inactivación.

$$N_t = N_0 - N_{res} \cdot e^{-k_{max} t} + N_{res} \quad \text{Ecuación 7}$$

Para evaluar las cinéticas de inactivación cuando el patógeno se vehiculizó en pollo se empleó el modelo log lineal (Ecuación 8)

$$N_t = N_0 \cdot e^{-k_{max} t} \quad \text{Ecuación 8}$$

Los modelos fueron realizados empleando el programa GInaFIT versión 1.6 (Katholieke Universiteit Leuven, Belgium).

De igual forma se evaluó la probabilidad de cada cepa de sobrevivir a condiciones gástricas  $P_{(SCG)}$ . Los recuentos bacterianos asumieron una distribución de Poisson, en donde la concentración (Log) tiene una distribución normal. Para evaluar  $P_{(SCG)}$ , se emplearon los datos del recuento en boca ( $\text{Log}_B$ ) y en estómago después de los 120 min ( $\text{Log}_{E120}$ ), empleando la Ecuación 9 y Ecuación 10.

$$\text{Log}_{E120} = \text{Log}_B + Dn \quad \text{Ecuación 9}$$

$$P_{(SCG)} = 10^{Dn} \quad \text{Ecuación 10}$$

#### 6.5.4 Evaluación de la variabilidad intra-especie en la probabilidad y severidad de la infección de *S. enterica*

La evaluación de la probabilidad y severidad de la infección de cepas de *S. enterica* se realizó empleando un modelo gastrointestinal dinámico e integrado *in vitro/ex vivo*. En este modelo se simularon las fases de la boca, estómago e intestino. Las fases boca y estómago se realizaron como se explicó en el punto 6.5.1. La fase intestinal se realizó empleando el modelo *ex vivo* desarrollado por Campos-Vega *et al.* (2015). Brevemente, a la mezcla procedente del estómago, se le adicionaron 5 mL de una solución amortiguadora de Krebs-Ringer (118 mM de NaCl, 4.7 mM KCl, 1.2 mM MgSO<sub>4</sub>, 1.2 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 25 mM NaHCO<sub>3</sub>, 11 mM Glucosa y 2.5 mM CaCl<sub>2</sub>) gasificada con CO<sub>2</sub> y adicionada con 2.6 mg de pancreatina (páncreas bovino (8xUSP, Sigma-Aldrich, St Louis, USA) y 3 mg de bilis de buey (Sigma-Aldrich, St Louis, USA), y se ajustó a pH 6.8 ± 0.2. Dentro de esta solución se colocó un saco invertido de un segmento de íleon de rata Wistar el cual contenía 1 mL de la solución Krebs-Ringer, y se incubó en un baño con agitación (150 rpm) a 37 °C por 90 min con agitación continua. Transcurrido el tiempo se realizaron los recuentos de *S. enterica* como se mencionó anteriormente en: 1) la solución externa del saco, 2) la solución interna del saco, y 3) el saco. Para cuantificar las células adheridas al saco este se lavó 5 veces en 5 diferentes recipientes que contenían SSI, con la finalidad de eliminar las células no adheridas al tejido; posteriormente el líquido interno se retiró mediante una incisión con tijeras estériles y se empleó para cuantificar las células que invadieron el tejido. El tejido se colocó en una bolsa estéril y se le adicionaron 10 mL de una solución amortiguadora de fosfatos para contar las células adheridas.

El saco invertido se empleó para poder evaluar la adhesión e invasión intestinal de *S. enterica*. El segmento de íleon se obtuvo de ratas macho de la cepa Wistar (250 a 300 g de peso corporal), las cuales se adquirieron en el Bioterio del Instituto de Neurobiología de la Universidad Nacional Autónoma de México, Campus Juriquilla. La obtención del saco intestinal invertido se realizó en una zona libre de bacterias patógenas. Para el sacrificio de las ratas, éstas se anestesiaron

en una cámara de CO<sub>2</sub> (60 %). Posteriormente se les realizó una incisión abdominal en la línea media y luego un corte en la aorta para provocar su muerte instantánea.

#### 6.5.4.1 Estimación de la probabilidad de infectar de *S. enterica*

La probabilidad de infectar ( $P_{inf}$ ) de *S. enterica* se determinó considerando la concentración del patógeno en cada etapa [boca, estómago, intestino 1 (afuera), intestino 2 (tejido), e intestino 3 (adentro)], empleando la fórmula propuesta por Wijnands, Teunis, Kuijpers, Delfgou-Van Asch, & Pielaat (2017), *Ecuación 10*.

$$\text{Log}(P_{inf}): \sum_{n=1}^5 D_n \text{ Ecuación 10}$$

De igual forma se calculó la reducción gástrica contemplando la concentración en la fase de la boca y estómago, y se calcularon los radios entre las células adheridas y las que llegaron a la luz intestinal ( $R_{AD/LI}$ ), y el radio de las células que invadieron y las que se adhirieron ( $R_{IN/AD}$ ).

#### 6.5.4.2 Evaluación del daño

Para la evaluación histopatológica, cada segmento intestinal se fijó en formalina al 15 % y se procesaron mediante procedimientos estándar para la incrustación de parafina. Los cortes se realizaron de 4 a 5 micras de grosor coloreándose con Hematoxilina-Eosina. Las muestras teñidas se observaron en un microscopio de contraste de fase Zeiss Axio D1 (Carl Zeiss AG, Oberkochen, Alemania) usando un filtro 54 HEC/Y/HR a 2.3 V y 100x. La severidad de la infección ( $S_{inf}$ ) fue realizada a ciegas por un patólogo que se centró en dos parámetros: integridad epitelial e infiltración de leucocitos polimorfonucleares (PMN) en la lámina propia. La integridad epitelial se clasificó como sin cambios (0), descamación (1), erosión (2) y ulceración (3); mientras que los PMN como sin agregaciones (0), una agregación pequeña (1), varias agregaciones de células (2) y gran agregación de células (3).

#### 6.5.5 Análisis estadístico

La variabilidad de la  $P_{inf}$  y  $S_{inf}$  entre las cepas de *S. enterica* se evaluó mediante un análisis de varianza y se realizó una comparación de medias por la prueba de Tukey. Los análisis fueron realizados en el programa RStudio versión 3.6.2 (RStudio, PBC, Boston, MA).

## **6.6 Análisis de la secuenciación del genoma completo (SGC)**

### **6.6.1 Extracción de ADN**

Las cepas de *S. enterica* se cultivaron en ATS a 35 °C durante 19 h. Luego, se extrajo el ADN utilizando un kit ZymoBIOMICS DNA Microprep (Zymo Research, Irvine, EUA). La calidad del ADN y la concentración se midieron utilizando el nanodrop 2000 / 200c (Thermo Scientific TM, Waltman, EUA).

### **6.6.2 SGC**

Las muestras de ADN se enviaron a Macrogen Inc. en Seúl, Corea del Sur, para la secuenciación del genoma completo. Brevemente, las librerías genómicas se sintetizaron utilizando el kit TruSeq Nano DNA (Illumino, San Diego, EUA), y se secuenciaron (lecturas de pares) empleando la Plataforma Illumina. Los archivos de secuencia FASTQ se obtuvieron utilizando el paquete bcl2fastq de Illumina.

El ensamblaje de las secuencias se realizó usando Unicycler versión 0.4.8 y la anotación usando Prokka versión 1.14.5 en el servidor Galaxy ([www.usegalaxy.org](http://www.usegalaxy.org)).

#### **6.6.2.1 Análisis del pan-genoma**

El análisis del pan-genoma se realizó utilizando los archivos gff3 obtenidos en el programa Roary versión 3.13.0, con un 95 % como porcentaje mínimo de identidad para blastp y un 99 % como porcentaje mínimo de identidad de un gen para formar parte del genoma núcleo (core genoma). Se creó un árbol filogenético y la visualización del pan-genoma con Phandango (<http://phandango.net>).

### **6.6.2.2 Serotipificación, tipificación multilocus de secuencias y detección de genes de virulencia y resistencia a antibióticos**

Los genomas ensamblados se utilizaron para evaluar el serotipo, las secuencias tipo (ST), y la presencia de genes de virulencia y resistencia a antimicrobianos. El serotipo y la predicción del ST se realizaron utilizando los servidores SeqSero 1.2 (Zhang *et al.*, 2015) y MLST 2.0 (Larsen *et al.*, 2012). La presencia de los genes resistentes a los antimicrobianos adquiridos y las mutaciones cromosómicas asociadas a la resistencia a los antimicrobianos se obtuvieron utilizando el servidor ResFinder 4.1 (Bortolaia *et al.*, 2020; Zankari *et al.*, 2017) (<https://cge.cbs.dtu.dk/services/ResFinder/>). Finalmente, la presencia de genes de virulencia se realizó mediante el servidor MyDbFinder 2.0, que permite identificar genes en un genoma mediante el uso de una base de datos propia. La base de datos de *S. enterica* empleada contenía 391 genes (18 genes de regulación, 164 genes de adhesión, 6 genes de colonización, 49 genes de invasión, 41 genes de maduración de SCV, 22 de genes asociados a la replicación dentro de los genes del huésped y 91 de genes asociados a la resistencia ante los mecanismos de defensa del huésped). Esta base se creó empleando las secuencias de las bases de datos: factores de virulencia (VFDB) (<http://www.mgc.ac.cn/VFs/>), factor de virulencia Victors (<http://www.phidias.us/victors>), KEEG base de datos (<https://www.kegg.jp/kegg/genes.html>) y UniProt (<https://www.uniprot.org/>). Se empleó un 90 % como porcentaje mínimo de identidad, y una longitud mínima del 80 %.

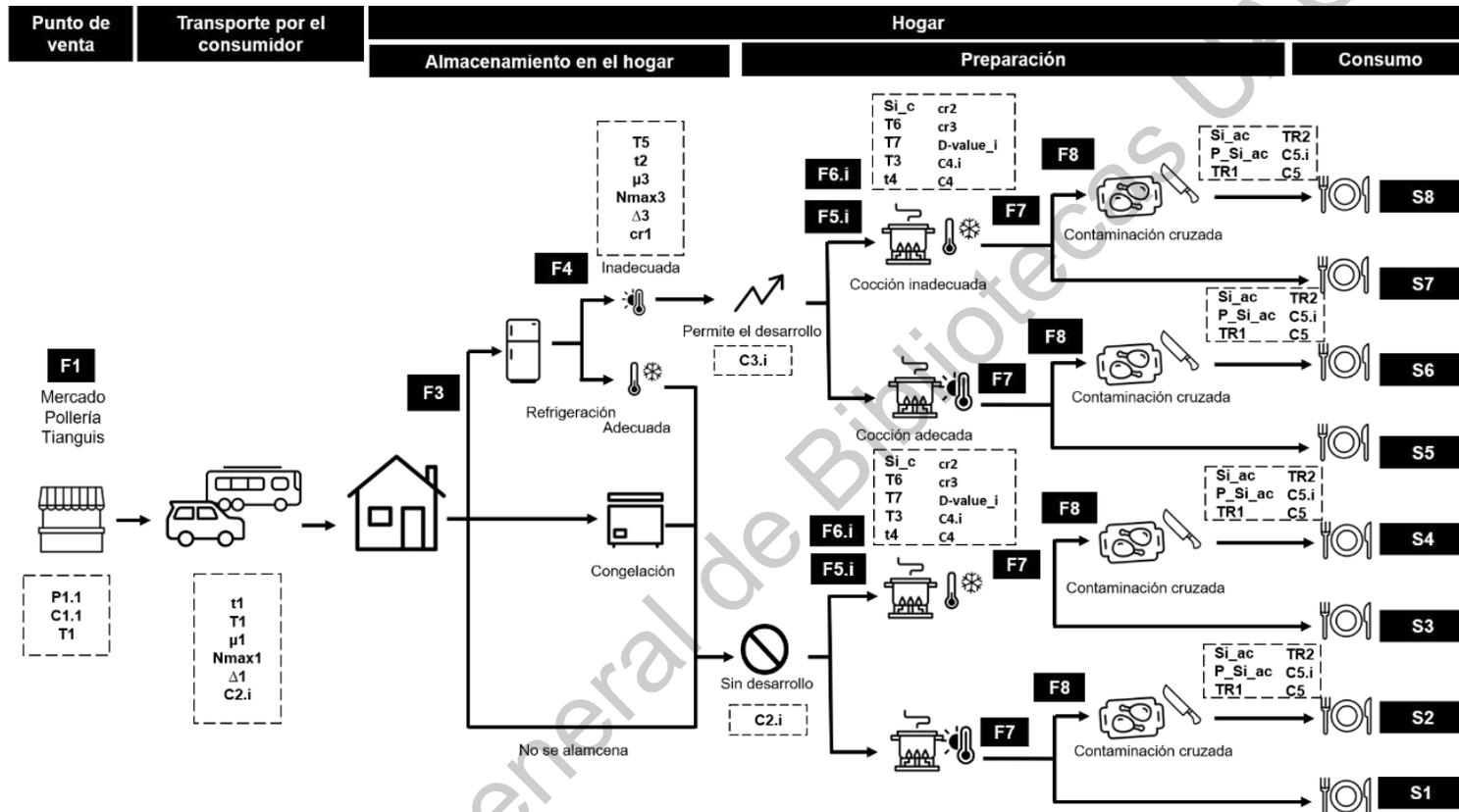
### **6.6.3 Integración de la SGC y la virulencia de *S. enterica***

La asociación de la SGC y la capacidad de virulencia de las seis cepas de *S. enterica*, se realizó mediante un análisis de componentes principales. Para ello se empleó el promedio de la reducción gástrica,  $R_{AD/LI}$ ,  $R_{IN/AD}$ ,  $P_{inf}$ , integridad epitelial,  $PMN$  y  $S_{inf}$ , así como la presencia de los genes de virulencia y resistencia a antimicrobianos que variaron entre las seis cepas. Cuando el gen estaba presente se colocó un valor de 1 y si estaba ausente 0. Para obtener una mejor visualización

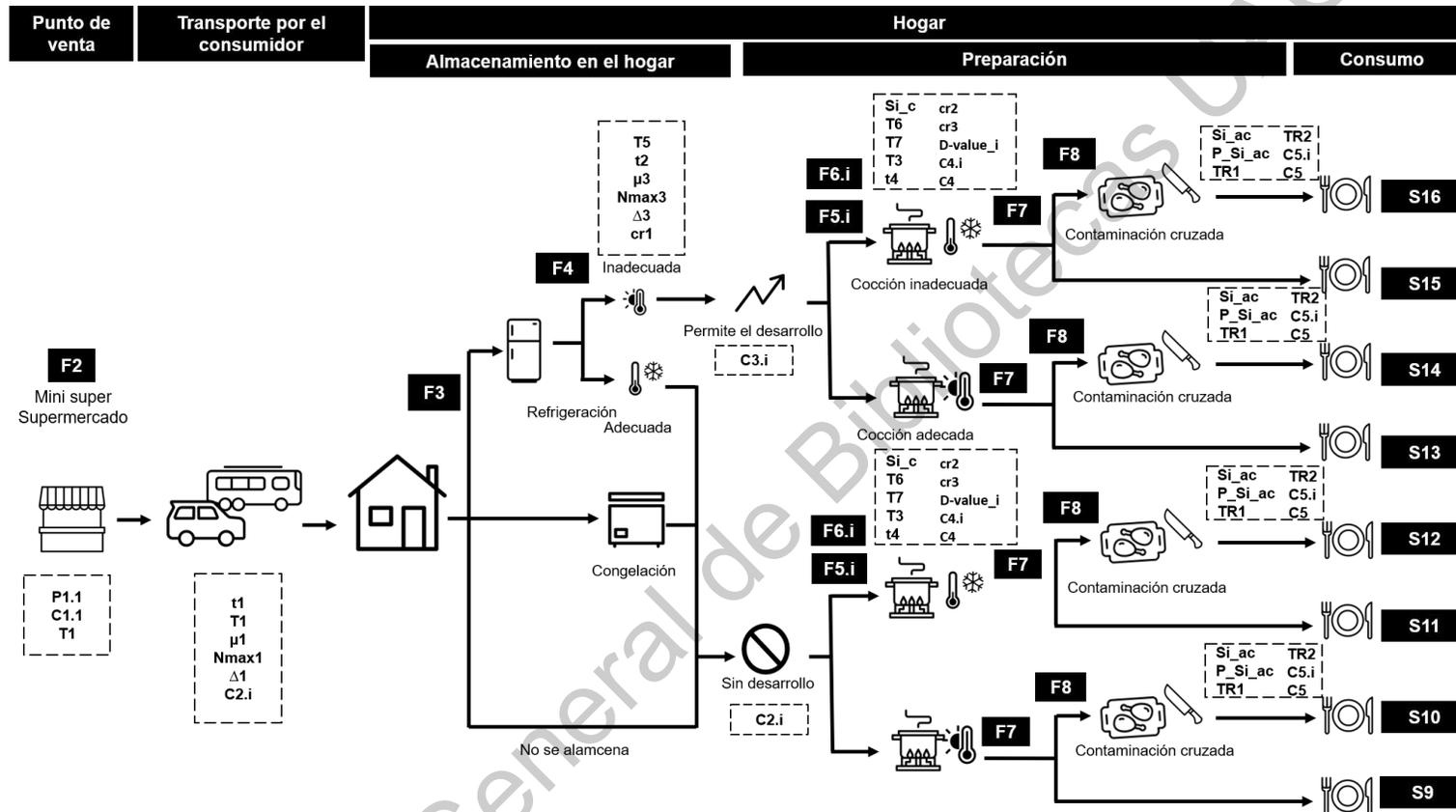
de los resultados se crearon conjuntos de genes de acuerdo con su perfil de frecuencia en las cepas. Conjunto 1 = *fliB*, *stfACDEF* y *STM0557*, conjunto 2 = *fljA*, *sciC-sciI*, *sciK-sciT* y *vgrS*, conjunto 3 = *pegABCD*, conjunto 4 = *sefABC*, *pefBACD*, *steABC*, *sopE*, *ssel / srfH*, *gtgE*, *spvRABCD*, *mig -5*, *rck*, *sseK3* y *SodCI*, conjunto 5 = *staABCDEFG*, *pltBA*, *hlyE* y *oafA*, conjunto 6 = *stcABCD*, *stkABCDEFG* y *stjACB*, conjunto 7 = *pcfABCD*, conjunto 8 = *lpfABCDE*, *sspH1*, *sspH2*, *envF*, *sseK2*, *sciUV* y *msgA*, conjunto 9 = *tae4*, conjunto 10 = *sseK1*, conjunto 11 = *gogB*, conjunto 12 = *gtgA*, conjunto 13 = *aac (3) -IV*, *aph (3') -la*, *aph (4) -La*, *blacTX.M-65*, *sul1* y *aadA1*, conjunto 14 = *dfra12* y *tet (A)*, conjunto 15 = *aadA2* y conjunto 16 = *qnrB19* y *sciJ*. El análisis estadístico se realizó utilizando RStudio versión 3.6.2 (RStudio, PBC, Boston, MA).

## **6.7 Evaluación cuantitativa del riesgo de *S. enterica* por el consumo de pollo en la región centro de México**

Se desarrolló un modelo base empleando la simulación Monte Carlo para evaluar el riesgo de consumo doméstico de pollo en piezas o filetes asociado a *S. enterica* para la población de la región centro de México (Aguascalientes, Colima, Ciudad de México, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, México, Michoacán, Morelos, Nayarit, Querétaro). El modelo cubre la cadena de suministro desde el punto de venta minorista del pollo crudo hasta el consumo doméstico. Se propusieron dieciséis escenarios diferentes; de ellos, cuatro no son riesgosos, debido a las prácticas de consumo. El modelo considera seis pasos: compra en el punto de venta, transporte por parte del consumidor, almacenamiento en casa, cocción, manipulación después de la cocción y consumo. La Figura 12 y la Figura 13 muestran el diagrama de flujo de cada escenario, y la Tabla 17 muestra las entradas para calcular la frecuencia de cada escenario, y la Tabla 18 como se calcularon. El modelo se construyó con 100.000 interacciones utilizando @Risk (versión 6.1, Palisade Corporation, Nueva York, EUA).



**Figura 12.** Escenarios de evaluación de la exposición de *S. enterica* en pollo desde el punto de venta hasta el consumo cuando se compra crudo en pollerías, tianguis o mercados. F= frecuencia; S= escenario. La descripción detallada de cada simbología se describe en las Tablas 17, 18 y 19.



**Figura 13.** Escenarios de evaluación de la exposición de *S. enterica* en pollo desde el punto de venta hasta el consumo cuando se compra crudo en mini supers y supermercado. F= frecuencia; S= escenario. La descripción detallada de cada simbología se describe en las Tablas 17, 18 y 19.

**Tabla 17.** Parámetros empleados para determinar la frecuencia de cada escenario.

Parámetros	Símbolo	Valor/Distribución	País/Región	Referencias
Frecuencia de compra de pollos en pollerías, tianguis, mercados.	F1	0.78		
Frecuencia de compra de pollos en supermercados y mini super.	F2	0.22	México	OCDE/SE, 2018
Frecuencia de almacenamiento de pollo en refrigeración.	F3	0.394	México (Región centro)	Pegueros-Valencia, 2021
Frecuencia de abuso de temperatura en refrigeradores domésticos.	F4	0.3375	México (Jalisco)	Obtenido con información de Macías-Rodríguez <i>et al.</i> , 2013
Frecuencia de preparación del pollo al horno.	F5. Ba	0.074		
Frecuencia de preparación del pollo a la plancha o empanizado.	F5. Gb	0.605		
Frecuencia de preparación del pollo frito.	F5. F	0.103	México (Región centro)	Este estudio
Frecuencia de preparación del pollo hervido.	F5. Bo	0.218		
Frecuencia de sobrevivencia de <i>S. enterica</i> cuando el pollo se hornea.	F6. Ba	0.00001		
Frecuencia de sobrevivencia de <i>S. enterica</i> cuando el pollo se empaniza o a la plancha.	F6. Gb	0.00012		
Frecuencia de sobrevivencia de <i>S. enterica</i> cuando el pollo se fríe.	F6. F	0.0	Trinidad y Tobago	Dookeran, 2012
Frecuencia de sobrevivencia de <i>S. enterica</i> cuando el pollo se hierve.	F6. Bo	0.0		
Frecuencia de manejo del pollo después de la preparación (cocinado).	F7	0.329		
Frecuencia de no limpiar, enjuagar con agua o lavar con detergente las superficies expuestas al pollo crudo y luego pollo cocinado.	F8	0.599	México (Región centro)	Pegueros-Valencia, 2021

**Tabla 18.** Frecuencia de que cada escenario ocurra.

Escenario	Fórmula	Frecuencia
S1	$F1 * (1-F3*F4) * [1-\sum(F5.i*F6.i)] * (1-F7*F8)$	$5.43 \times 10^{-1}$
S2	$F1 * (1-F3*F4) * [1-\sum(F5.i*F6.i)] * (F7*F8)$	$1.33 \times 10^{-1}$
S3	$F1 * (1-F3*F4) * \sum(F5.i*F6.i) * (1-F7*F8)$	$3.98 \times 10^{-5}$
S4	$F1 * (1-F3*F4) * \sum(F5.i*F6.i) * (F7*F8)$	$9.76 \times 10^{-6}$
S5	$F1 * (F3*F4) * [1-\sum(F5.i*F6.i)] * (1-F7*F8)$	$8.33 \times 10^{-2}$
S6	$F1 * (F3*F4) * 1-\sum(F5.i*F6.i)] * (F7*F8)$	$2.04 \times 10^{-2}$
S7	$F1 * (F3*F4) * \sum(F5.i*F6.i) * (1-F7*F8)$	$6.10 \times 10^{-6}$
S8	$F1 * (F3*F4) * \sum(F5.i*F6.i) * (F7*F8)$	$1.5 \times 10^{-6}$
S9	$F2 * (1-F3*F4) * [1-\sum(F5.i*F6.i)] * (1-F7*F8)$	$1.53 \times 10^{-1}$
S10	$F2 * (1-F3*F4) * [1-\sum(F5.i*F6.i)] * (F7*F8)$	$3.76 \times 10^{-2}$
S11	$F2 * (1-F3*F4) * \sum(F5.i*F6.i) * (1-F7*F8)$	$1.12 \times 10^{-5}$
S12	$F2 * (1-F3*F4) * \sum(F5.i*F6.i) * (F7*F8)$	$2.75 \times 10^{-6}$
S13	$F2 * (F3*F4) * [1-\sum(F5.i*F6.i)] * (1-F7*F8)$	$2.35 \times 10^{-2}$
S14	$F2 * (F3*F4) * 1-\sum(F5.i*F6.i)] * (F7*F8)$	$5.76 \times 10^{-3}$
S15	$F2 * (F3*F4) * \sum(F5.i*F6.i) * (1-F7*F8)$	$1.72 \times 10^{-6}$
S16	$F2 * (F3*F4) * \sum(F5.i*F6.i) * (F7*F8)$	$4.22 \times 10^{-7}$
$\sum S$	--	1.00

## 6.7.1 Escenarios de exposición

### 6.7.1.1 Punto de venta

El punto de venta al público se dividió en dos: el punto de venta 1 (RP1), que incluye pollerías, tianguis y mercados, y el punto de venta 2 (RP2), que incluye mini supers y supermercados. Esta división se realizó considerando la diferencia de prevalencia y concentración del patógeno entre establecimientos de las dos categorías, así como las condiciones de almacenamiento empleadas en cada punto de venta.

Se utilizaron datos de prevalencia y concentración de *S. enterica* en pechuga de pollo crudo y filete comprado en el Jalisco y Querétaro por punto de venta al público. Para la prevalencia se empleó una distribución Beta, y para la concentración se utilizaron distribuciones normales y se truncaron, siendo el valor mínimo en ambos casos -1.52 Log NMP/g, y el valor máximo de 2.08 Log NMP/g y 0.64 Log NMP/g cuando se adquirió en RP1 y RP2, respectivamente. El valor mínimo es el límite de cuantificación de la técnica utilizada, y en ambos casos, se encontraron muestras por debajo de él. El valor máximo en los casos de muestras de RP2 fue la concentración más alta encontrada en una muestra de este punto de venta. Mientras que para las muestras de RP1, el valor máximo fue la concentración más alta encontrada en otros estudios (2.85 Log NMP/g (Shashidhar, Srivastava, & Bandekar, 2011), porque algunas muestras compradas en RP1 tuvieron una concentración de *S. enterica* por encima del límite de cuantificación superior (LCS) (0.64 Log NMP/g) (Tabla 19).

**Tabla 19.** Parámetros para calcular el punto de venta

Parámetros	Símbolo	Valor/Distribución	País/Región	Referencia
Prevalencia de <i>S. enterica</i> en pechuga y filete de pechuga de pollo crudo comprado en pollería, tianguis, mercados.	P1.1	=RiskBeta (44,160)	México (Jalisco y Querétaro)	
Prevalencia de <i>S. enterica</i> en pechuga y filete de pechuga de pollo crudo comprado en supermercados y mini supers.	P1.2	=RiskBeta (27, 77)	México (Jalisco y Querétaro)	
Concentración de <i>S. enterica</i> en pechuga y filete de pechuga de pollo crudo comprado en pollería, tianguis, mercados (Log NMP/g).	C1.1	=RiskNormal (-0.497, 0.532), RiskTruncate (-1.52, 2.90)	Mexico (Jalisco y Querétaro)	Este estudio
Concentración de <i>S. enterica</i> en pechuga y filete de pechuga de pollo crudo comprado en supermercado y mini supers (Log NMP/g).	C1.2	=RiskNormal (-0.806, 0.569), RiskTruncate (-1.52, 0.64)	Mexico (Jalisco y Querétaro)	

### 6.7.1.2 Transporte por el consumidor

La capacidad de crecimiento está relacionada con el punto de venta comprado debido a la temperatura a la que se vende el pollo. El crecimiento durante el transporte se describió utilizando un modelo secundario polinomial cuadrático propuesto por Oscar (2007) para un inóculo bajo de *S. enterica*. Este modelo fue creado en presencia de la microbiota nativa. La temperatura utilizada para modelar el comportamiento de *S. enterica* cuando se compra en RP1 fue el promedio de la temperatura ambiente de la región del centro de México (mínima, media, máxima). Cuando se compró en RP2, la temperatura utilizada fue el promedio entre la temperatura del producto en el punto de venta y en el hogar. En México, no se dispone de datos de la temperatura del pollo en los puntos RP2. Por este motivo, se utilizaron datos de otro producto (queso) que también se encuentran almacenados a temperatura de refrigeración en estos puntos. Esta decisión se tomó considerando que en un estudio en Estados Unidos la temperatura de almacenamiento es similar entre productos lácteos y la carne cruda en puntos de venta (EcoSure, 2008). Se estimó la temperatura del producto al llegar al hogar, asumiendo un aumento exponencial por hora (Jeong *et al.*, 2018). El tiempo de transporte fue tomado por una encuesta realizada en Trinidad y Tobago (país del Caribe). No se consideró la fase Lag. La población máxima para la temperatura de exposición se calculó utilizando la fórmula propuesta por Oscar (2007) para inóculos bajos de *S. enterica* (Tabla 20).

### 6.7.1.3 Almacenamiento en el hogar

Para evaluar el desarrollo del patógeno durante el almacenamiento se empleó el mismo modelo mencionado anteriormente. La temperatura a la cual se evaluó el desarrollo fue a una temperatura de abuso en refrigeración. El pollo es un producto perecedero, por lo que tiende a deteriorarse, lo que modifica los hábitos de consumo. Para evitar combinaciones poco realistas de tiempo y temperatura durante el almacenamiento en refrigeración que conduzcan al consumo de pollo en mal estado, se utilizó una correlación negativa entre estos dos parámetros (Pérez-

Rodríguez, Van Asselt, García-Gimeno, Zurera, & Zwietering, 2007). El coeficiente de correlación entre el tiempo y la temperatura durante el almacenamiento en refrigeración se calculó utilizando datos de tres estudios realizados en Corea, Tailandia e Irán, en donde evaluaron la vida útil del pollo crudo cuando se almacenó a diferentes temperaturas de refrigeración (0° C a 15 °C) (Tabla 21).

#### **6.7.1.4 Cocinado**

La frecuencia con la que *S. enterica* sobrevive después de la cocción se estimó dependiendo del método de cocción empleado (al horno, a la plancha o empanizados, freído y hervido), y la frecuencia de sobrevivencia de *S. enterica* en cada método de cocción propuesto por Dookeran (2012). Dookeran encontró que cuando el pollo se hornea o se cocina a la plancha, *S. enterica* puede sobrevivir. Se asumió un comportamiento similar al de cocinado a la parrilla para cuando se empaniza el pollo y se unieron estos dos tipos de métodos de cocción. El horneado (escenario A) y el cocinado a la parrilla o empanizado (escenario B) son los únicos dos escenarios de riesgo contemplados en este estudio. Los tiempos y temperaturas utilizados para los dos métodos de cocción también se obtuvieron del estudio de Dookeran (Tabla 22). Para este estudio se asumió que Log NMP/g es equivalente a Log UFC/g.

#### **6.7.1.5 Manejo después de la cocción**

Se propusieron tres escenarios diferentes para simular una contaminación cruzada del pollo después de la cocción mediante el uso de tablas de picar: A) no limpiar las superficies, B) enjuagar las superficies con agua corriente y C) lavar las superficies con detergente. Lo anterior se estableció considerando que Gkana *et al.* (2016) encontraron que aun cuando una superficie contaminada con *S. enterica* se enjuaga con agua o se lava con detergente, el patógeno aún puede persistir en la superficie. Los porcentajes de positividad de *S. enterica* después del tratamiento de descontaminación dependen del tratamiento. La Tabla 23 muestra los parámetros para estimar los escenarios de contaminación cruzada.

**Tabla 20.** Parámetros para calcular el transporte por el consumidor.

Parámetro	Símbolo	Valor/Distribución	País/Región	Referencia
Tiempo de transporte del punto de venta al hogar (h)	t1	=RiskCumul (0.33,1, {0.33,0.5,0.667,1}, {0.228,0.661,0.748,1})	Trinidad y Tobago	Dookeran, 2012
Temperatura del pollo en RP1 (°C)	T1	=RiskPert (13.1, 20.8, 29.5)	México (Región centro)	CONAGUA, 2020
Temperatura del pollo en RP2 (°C)	T2	=RiskPert (9, 9, 14)	México (Querétaro)	Lucero-Mejia, 2016
Temperatura del pollo al llegar al hogar cuando se compra en RP2 (°C)	T3	=RiskOutput () + e <sup>t1</sup> -1 + T2	Corea	Jeong <i>et al.</i> , 2018
Promedio de la temperatura del pollo entre el punto de venta y en el hogar cuando se compra en RP2 (°C)	T4	=RiskOutput () + $\frac{(T2 + T3)}{2}$	--	--
Tasa de crecimiento de <i>S. enterica</i> durante el transporte por parte del consumidor cuando se compra en RP1 (Log NMP/g/h)	μ1	=RiskOutput () + e <sup>(-5.853 + (0.2776*T1) + (-0.003248*T1*T1))</sup>		
Tasa de crecimiento de <i>S. enterica</i> durante el transporte por parte del consumidor cuando se compra en RP2 (Log NMP/g /h)	μ2	=RiskOutput () + e <sup>(-5.853 + (0.2776*T4) + (-0.003248*T4*T4))</sup>	Estados Unidos	Oscar, 2007
Población máxima de <i>S. enterica</i> durante el transporte por parte del consumidor cuando se compra en RP1 (Log NMP/g)	Nmax1	=RiskOutput () + e <sup>((2.393 (T1-9.175)) / (T1-6.74))</sup>		
Población máxima de <i>S. enterica</i> durante el transporte por parte del	Nmax2	=RiskOutput () + e <sup>((2.393(T4-9.175)) / (T4-6.74))</sup>		

consumidor cuando se compra en RP2 (Log NMP/g)				
Incremento de <i>S. enterica</i> durante el transporte por parte del consumidor cuando se compra en RP1 (Log NMP/g)	$\Delta 1$	$=RiskOutput () + \mu 1 * t 1$	--	--
Incremento de <i>S. enterica</i> durante el transporte por parte del consumidor cuando se compra en RP2 (Log (NMP/g)	$\Delta 2$	$=RiskOutput () + \mu 2 * t 1$	--	--
Concentración de <i>S. enterica</i> después del transporte cuando se compra en RP1 (Log NMP/g)	C2. i	$=RiskOutput () + if ((C1 + \Delta 1) > Nmax1, Nmax1, C1 + \Delta 1)$	--	--
Concentración de <i>S. enterica</i> después del transporte cuando se compra en RP2 (Log NMP/g)		$=RiskOutput () + if ((C1 + \Delta 2) > Nmax2, Nmax2, C1 + \Delta 2)$	--	--

Dirección General de Bibliotecas UAQ

**Tabla 21.** Parámetros para la evaluación de almacenamiento en el hogar.

Parámetros	Símbolo	Valor/Distribución	País/Región	Referencia
Temperatura de refrigeradores domésticos cuando están en abuso de temperatura (°C)	T5	=RiskGeneral (9.2,15, {9.5,13.5}, {0.1925,.145})	México (Jalisco)	Obtenido con datos de Macías-Rodríguez <i>et al.</i> , 2013
Tiempo de almacenamiento del pollo en refrigeradores domésticos (h)	t2	=RiskPert (24, 24, 120)	México (Región centro)	Pegueros-Valencia, 2021
Correlación entre el tiempo y temperatura de almacenamiento en refrigeradores domésticos (°C)	cr1	-0.78	Corea Irán Tailandia	Obtenido con datos de Farahnaz, Reza Housaindokht, Mohsenzadeh, & Varidi, 2016; Lee, Baek, Kim, & Seo, 2019; Rukchon, Nopwinyuwong, Trevanich, Jinkarn, & Suppakul, 2014
Máxima población de <i>S. enterica</i> durante el almacenamiento en refrigeradores domésticos (Log NMP/g)	Nmax3	=RiskOutput () + e <sup>((2.393(T5-9.175))/(T5-6.74))</sup>	Estados Unidos	(Oscar, 2007)
Tasa de crecimiento de <i>S. enterica</i> durante el almacenamiento en refrigeradores domésticos (Log NMP/g)	μ3	=RiskOutput () + e <sup>(-5.853+(0.2776*T5) +(-0.003248*T5*T5))</sup>		
Incremento de <i>S. enterica</i> durante el almacenamiento en refrigeradores domésticos (Log NMP/g)	Δ3	=RiskOutput () + μ3*t2	--	--
Concentración de <i>S. enterica</i> previo a la cocción cuando se almacena (Log NMP/g)	C3. i	=RiskOutput () + If ((C2+ Δ3) > Nmax3, Nmax3, C2+ Δ3)	--	--

**Tabla 22.** Parámetros para la evaluación de la cocción.

Parámetros	Símbolo	Valor/Distribución	País/Región	Referencia
Frecuencia de escenario de cocción A	SA_c	0.01	México (Región centro)	--
Frecuencia de escenario de cocción B	SB_c	0.99	México (Región centro)	--
Temperaturas de cocción de escenario A (°C)	T6	=RiskPert (37.8, 79, 79)		
Temperaturas de cocción de escenario B (°C)	T7	=RiskPert (33.3, 63.5, 72.5)		Dookeran <i>et al.</i> , 2012
Tiempo de cocción de escenario A (min)	t3	=RiskCumul (15,60{15,30,45,60}, {0.029,0.075,0.468,1.00})	Trinidad y Tobago	
Tiempo de cocción de escenario B (min)	t4	=RiskCumul (15,60{15,30,45,60}, {0.092,0.231,0.780,1.00})		
Correlación de tiempo y temperatura para escenario A	cr2	0.99		Obtenido con información de Dookerah <i>et al.</i> ,2012
Correlación de tiempo y temperatura para escenario A	cr3	0.98		
Valor D para escenario A	D-values_A	=RiskOutput () + 10 <sup>((-0.139*T6) + 8.58)</sup>	--	FAO/WHO, 2002
Valor D para escenario B	D- value_B	=RiskOutput () + 10 <sup>((-0.139*T7) + 8.58)</sup>	--	FAO/WHO, 2002
Concentración de <i>S. enterica</i> después del escenario A (UFC/g)	C4.A	=RiskOutput () + 10 <sup>C3-(t3/D-value_A)</sup> or =RiskOutput () + 10 <sup>C2-(t3/D-value_A)</sup>	--	--
Concentración de <i>S. enterica</i> después del escenario B (UFC/g)	C4.B	=RiskOutput () + 10 <sup>C3-(t4/D-value_B)</sup> or =RiskOutput () + 10 <sup>C2-(t4/D-value_B)</sup>	--	--
Concentración de <i>S. enterica</i> después de la cocción (UFC/g)	C4	=RiskOutput () + SA_c * C4.A + SB_c* C4.B)	--	--

**Tabla 23.** Parámetros para la evaluación del manejo del pollo después de la cocción.

Parámetros	Símbolo	Valor/Distribución	País/Región	Referencia
Frecuencia del escenario de manejo A	SA_ac	0.757	México (Región centro)	--
Frecuencia del escenario de manejo B	SB_ac	0.194	México	--
Frecuencia del escenario de manejo C	SC_ac	0.049	(Región centro)	--
Frecuencia de superficies positivas en escenario A	P_SA_ac	=RiskPert (0.99,1.0,1.0)		
Frecuencia de superficies positivas en escenario B	P_SB_ac	=RiskPert (0.25,1.0,1.0)	Grecia	Gkana <i>et al.</i> , 2016
Frecuencia de superficies positivas en escenario C	P_SC_ac	=RiskPert (0.0,0.5,1.0)		
Tasa de transferencia de <i>S. enterica</i> de pollo crudo a superficies (%)	TR1	=RiskPert (0.005,1.30, 3.48)	--	Kusumaningrum, Van Asselt, Beumer, & Zwietering, 2004; Ravishankar <i>et al.</i> , 2010; Sarjit & Dykes, 2017; Zhu <i>et al.</i> , 2017
Tasa de transferencia de <i>S. enterica</i> de superficies a pollo cocido (%)	TR2	=RiskPert (32,52,94)	--	Kusumaningrum <i>et al.</i> , 2003
Concentración de <i>S. enterica</i> después del escenario de manejo A (UFC/g)	C5.A	$[(TR1/100) * (TR2/100) * 10^{C2} * Pp\_SA\_ac]$ or $[(TR1/100) * (TR2/100) * 10^{C2} * Pp\_SA\_ac + C4]$ or $[(TR1/100) * (TR2/100) * 10^{C3} * Pp\_SA\_ac]$ or	--	--

			$\begin{aligned} &[(TR1/100) * (TR2/100) * 10^{C3} \\ & * Pp\_SA\_ac] \\ & + C4 \end{aligned}$		
			$\begin{aligned} &[(TR1/100) * (TR2/100) * 10^{C2} \\ & * Pp\_SB\_ac] \\ & \text{or} \\ & [(TR1/100) * (TR2/100) * 10^{C2} \\ & * Pp\_SB\_ac] \\ & + C4 \end{aligned}$		
Concentración de <i>S. enterica</i> después del escenario de manejo B (UFC/g)	C5.B		$\begin{aligned} &[(TR1/100) * (TR2/100) * 10^{C3} \\ & * Pp\_SB\_ac] \\ & \text{or} \\ & [(TR1/100) * (TR2/100) * 10^{C3} \\ & * Pp\_SB\_ac] \\ & + C4 \end{aligned}$	--	--
			$\begin{aligned} &[(TR1/100) * (TR2/100) * 10^{C2} \\ & * Pp\_SC\_ac] \\ & \text{or} \\ & [(TR1/100) * (TR2/100) * 10^{C2} \\ & * Pp\_SC\_ac] \\ & + C4 \end{aligned}$		
Concentración de <i>S. enterica</i> después del escenario de manejo C (UFC/g)	C5.C		$\begin{aligned} &[(TR1/100) * (TR2/100) * 10^{C3} \\ & * Pp\_SC\_ac] \\ & \text{or} \\ & [(TR1/100) * (TR2/100) * 10^{C3} \\ & * Pp\_SC\_ac] \\ & + C4 \end{aligned}$		
Concentración de <i>S. enterica</i> del manejo (UFC/g)	C5		$\begin{aligned} &=RiskOutput \\ & ()+(SA\_ac*C5.A)+(SB\_ac*C5.B)+(SC \\ & \_ac*C5.C) \end{aligned}$	--	--

#### **6.7.1.6 Consumo**

El consumo de *S. enterica* en una sola exposición se calculó considerando el peso de la porción según la edad de las personas. El modelo de dosis-respuesta empleado fue el propuesto por la FAO/WHO (2002), el cual se desarrolló a partir de datos de brotes. La Tabla 24 muestra cómo se estimó el número de casos por año para cada escenario.

#### **6.7.2 Análisis de sensibilidad**

El análisis de sensibilidad se realizó utilizando los coeficientes de correlación de Spearman, el cuál muestra qué entradas tienen una gran influencia en la variabilidad de la probabilidad de enfermedad. Esto se realizó mediante simulación de Monte Carlo (100.000 interacciones) el programa @Risk (versión 6.1, Palisade Corporation, Nueva York, EUA).

### **6.8 Refinamiento de la evaluación cuantitativa del riesgo de *S. enterica* por el consumo de pollo en la región centro de México**

El refinamiento del modelo se realizó considerando la prevalencia de cepas de *S. enterica* de baja, moderada y alta virulencia en pollo crudo, en combinación con su MRA. Se crearon seis grupos: 1) Baja virulencia - no MRA, 2) Baja virulencia - MRA, 3) Moderada virulencia - no MRA, 4) Moderada virulencia - MRA, 5) Alta virulencia - no MRA y 6) Alta virulencia - MRA. Se emplearon tres modelos diferentes de dosis-respuesta para *S. enterica* de baja, moderada y alta virulencia (Tabla 25).

**Tabla 24.** Parámetros para la evaluación del consumo de pollo.

Parámetros	Símbolo	Valor/Distribución	País/Región	Referencia
Peso de la porción.	Sw	=RiskCumul (28.7, 450, {29.7, 71.5, 114.8, 150, 300, 450}, {0.076,0.158, 0.242,,0.748,0.96,1.0})	México (Región centro)	Apéndice 3
Concentración de <i>S. enterica</i> en pollo cocinado en una sola exposición.	C6	=RiskOutput () + Sw*C5	--	--
Probabilidad de enfermar por el consumo de pollo contaminado con <i>S. enterica</i> .	p1	$1 - (1 + \frac{C_6}{\beta})^{-\alpha}$	--	FAO/WHO, 2002
Población en la región centro de México en 2020.	PCRM	56,181,482	México (Región centro)	INEGI, 2020
Frecuencia de compra de pollo crudo.	F9	0.777	México (Región centro)	Este estudio
Porcentaje de personas que consumen carnes frescas (incluyendo pollo).	F10	0.62	México (Región centro)	Shamah-Levy <i>et al.</i> , 2020 Apéndice 4
Número de personas que consumen pollo cuando este es comprado crudo.	N1	=RiskOutput()+(PCRM* F9*F10)	--	--
Frecuencia de consumo de pollo por semana.	F11	=RiskCumul (1,7, {1,2,3,4,5,6,7},{0.214,0.653, 0.878, 0.956,0.996,1.0})	México (Región centro)	Este estudio Apéndice 5
Número de porciones servidas al año.	N2	=RiskOutput()+(N1*F11*52)	--	--
Frecuencia de que un escenario de exposición ocurra.	S.i	Table 18	--	--
Número de porciones servidas al año por escenario.	N3	=RiskOutput()+N2*S.i	--	--
Número de porciones contaminadas al año por escenario.	N4	=RiskOutput()+N3*P1.i	--	--
Número de casos de enfermedad por año por escenario.	N5	=RiskOutput()+ N4*p1	--	--

**Tabla 25.** Modelos dosis-respuesta para los diferentes niveles de virulencia de *S. enterica*.

Nivel de virulencia	Modelo	Referencia
Bajo	Beta-Poisson ( $\beta= 9.99 \times 10^{12}$ , $\alpha=9.31 \times 10^4$ )	Latimer <i>et al.</i> , 2001
Moderado	Beta-Poisson ( $\beta= 3.165 \times 10^{10}$ , $\alpha=9.21 \times 10^3$ )	Latimer <i>et al.</i> , 2001
Alto	Beta-Poisson ( $\beta= 51.54$ , $\alpha=0.1324$ )	FAO/WHO, 2002

La probabilidad de enfermedad no fue separada por MRA. Sin embargo, la MRA se consideró en la evaluación de la severidad de enfermedad, la cual se determinó con los años vividos con discapacidad (AVD) causada por cada grupo de *S. enterica* para personas <5 años y > 5 años. AVD fue calculada empleando la Ecuación 11, donde N = el número de casos en la población, PD = peso de la discapacidad, D = duración media del caso hasta la remisión (años).

$$AVD = N * PD * D \quad \text{Ecuación 11}$$

Para calcular los AVD se utilizaron los datos propuestos por la OMS (WHO, 2015). Para el peso de la discapacidad se asumió que *S. enterica* de baja, moderada y alta virulencia producen una leve (0.061 (95% UI 0.036 - 0.093)), moderada (0.202 (95% UI (0.133-0.299)) y severa (0.281 (95% UI (0,184-0,399)) diarrea, respectivamente. La duración de la enfermedad, para los niños <5 años para diarrea grave, moderada y leve fue de 8.4, 6.4 y 4.3 días. La duración media de la diarrea en <5 años es de 4.9 días, con base en esta información y sabiendo que la media para > 5 años es 2.8 días, la duración para diarrea severa, moderada y leve se calculó en 4.8, 3.7 y 2.4 días, respectivamente. En el caso de los grupos MRA la duración de la enfermedad se multiplicó por 1.3 considerando la información obtenida por la revisión generada por Parisi *et al.* (2018) (Tabla 26).

**Tabla 26.** Parámetros para la evaluación de los AVD.

AVD	< 5 años	> 5 años
I	=0.24*Tc x g	=0.76* Tc x g
PD_baja_virulencia	=RiskPert (0.036,0.061,0.093)	=RiskPert (0.036,0.061,0.093)
PD_moderada_virulencia	=RiskPert (0.133, 0.202, 0.299)	=RiskPert (0.133,0.202,0.299)
PD_alta_virulencia	=RiskPert (0.184,0.281,0.399)	=RiskPert (0.184,0.281,0.399)
D_baja_virulencia_no_MRA	=4.3/365	=2.4/365

D_baja_virulencia_MRA	$=(4.3/365)*1.3$	$=(2.4/365)*1.3$
D_moderada_virulencia_no_MRA	$=6.4/365$	$=3.7/365$
D_moderada_virulencia_MRA	$=(6.4/365)*1.3$	$=(3.7/365)*1.3$
D_alta_virulencia_no_MRA	$=8.4/365$	$=4.8/365$
D_alta_virulencia_MRA	$=(8.4/365)*1.3$	$=(4.8/365)*1.3$

Dirección General de Bibliotecas UAQ

## 7 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 7.1 Evaluación de los hábitos de consumo y prácticas de manipulación de alimentos en el hogar y evaluación de la percepción de exposición a *S. enterica* de la población del centro del país

Un total de 1,511 respuestas fueron recibidas de las cuales 1,199 cumplieron con las características necesarias. El coeficiente alfa de Cronbach estimado fue de 0.77, lo que seguirá una confiabilidad aceptable de la consistencia interna de las preguntas de la encuesta.

#### **Primera sección: Características demográficas.**

La encuesta fue principalmente respondida por mujeres (61.6 %; n=739), jóvenes entre los 25 y 29 años (28.4 %; n= 340) y personas con grado universitario (60.4 %; n= 724). El empleo de internet (principalmente redes sociales) como medio de distribución de la encuesta pudo haber sido un factor que influyó en las personas que contestaron la encuesta. Algunos estudios demográficos sobre el uso de distintas redes sociales han observado que los usuarios tienden a ser en su mayoría mujeres, de un rango de edad entre los 18 y 29 años y que viven en zonas urbanas (Chaffey, 2016; Duggan & Brenner, 2013).

El 40 % de las personas que respondieron la encuesta padecen una o más enfermedades gastrointestinales, entre las que destacan gastritis (n= 282), colitis (n=257), estreñimiento (n=107) y reflujo (n=72). En México siete de cada diez personas padece algún padecimiento gastrointestinal destacando la gastritis y el reflujo (Rebollo, 2016). En la ENSANUT 2012 se reportó que las enfermedades y síntomas gastrointestinales son la segunda causa de consulta con un médico en el país para personas menores de 20 años y la tercera para los mayores a 20 años (SS/INSP, 2012).

En el caso de las enfermedades crónico-degenerativas, el 10 % comentaron conocer que padecían este tipo de enfermedades. El ENSANUT MC (Medio Camino) 2016 reportó que en México el 9.4 % de los adultos entrevistados han sido diagnosticados con diabetes, el 25.5 % padecen hipertensión arterial pero únicamente la mitad conocía su diagnóstico y en el caso de la autopercepción del

peso no saludable, el 48.4 % se identificó con sobrepeso y el 6.7 % con obesidad. En México 7 de cada 10 adultos y 3 de cada 10 niños padecen alguno de estos dos padecimientos (SS/INSP, 2016).

### **Segunda sección: Hábitos de consumo.**

Las frutas y hortalizas son el grupo de alimentos más consumido por las personas (99.2 %; n= 1190). El consumo recomendado de estos productos es diario, sin embargo, únicamente alrededor de un cuarto de las personas consume frutas (28.2 %, n= 338) y hortalizas (23.4 %, n= 281) todos los días (Figura 14A). Cuando se consumen estos productos, aproximadamente la mitad de los encuestados consume una porción de los diferentes tipos de frutas y hortalizas (Figura 15A y Figura 13B).

Las frutas se consumen principalmente crudas (81.5 %), seguido de deshidratadas (6.3 %), hervidas (7.0 %), al vapor (3.2 %) y a la plancha (2.0 %). De las frutas que se consumen crudas, el 47.9 % de los consumidores las lava, el 26.0 % las lava y desinfecta, el 21.5 % las desinfecta, y una pequeña fracción las consume sin lavar y/o desinfectar (4.6 %). En el caso de las hortalizas, también la mayoría de las veces se consumen crudas (38.2 %), seguido de hervidas (29.0 %), al vapor (21.8 %), a la plancha (9.7 %) y deshidratadas (1.3 %). De las hortalizas que se consumen crudas, el 17.2 % de los consumidores las lava, el 34.2 % las lava y desinfecta, el 44.8 % las desinfecta, y una pequeña fracción las consume sin lavar y/o desinfectar (3.8 %). En un estudio realizado en Estados Unidos se encontró que el 6 % de las personas nunca lavan los productos hortofrutícolas previo al consumo (Li-Cohen & Bruhn, 2002). El bajo porcentaje de personas que no lavan ni desinfectan los productos hortofrutícolas puede deberse, a la preocupación de la población a enfermarse por el consumo de estos productos ya que han sido rutinariamente asociados en brotes, principalmente de salmonelosis (Lynch, Tauxe, & Hedberg, 2009). Asimismo la mayoría de la población identifica como una práctica segura el consumo de frutas y verduras previamente lavadas (McCarthy *et al.*, 2007).

La carne fresca es el segundo grupo de alimentos de mayor consumo (96.3 %, n= 1155), siendo la carne de pollo de los cuatro tipos de carne la preferida por el

consumidor (43.8 %, n= 506), seguido de la carne de res (40.7 %, n= 470), cerdo (12.1 %, n=140) y pavo (3.4 %, n= 39). La carne de pollo es la que se consume con mayor frecuencia, dos veces a la semana (41.3 %), seguida de la carne de res donde el 37.5 % y 33.2 % la consume una vez a la semana y dos veces a la semana (Figura 14B). Una porción de 150 g es el consumo regular para los cuatros tipos de carne (Figura 15C). La carne se compra con mayor frecuencia en fresco (58.8-77.7 %) (Tabla 27).

**Tabla 27.** Forma de compra de la carne fresca en México.

Tipo de carne	Porcentaje (%)					
	Cruda	Cocida	Congelada	Marinada	Molida	Precocida
Puerco	72.2	8.9	4.8	2.6	9.2	2.3
Pavo	58.8	7.0	12.8	5.6	3.7	12.2
Pollo	77.7	8.7	7.0	2.7	2.3	1.6
Res	63.1	7.5	5.2	6.7	17.0	0.7

La forma de consumo varía de acuerdo con el tipo de carne, siendo la carne de pavo consumida principalmente al horno (45 %), mientras que la de res (53.0 %), cerdo (40.5 %) y pollo (35.5 %) se consume principalmente asada (Tabla 28). En el caso particular de la carne de res, la mayoría de los encuestados reportan consumirla bien cocida (67.5 %), el 24.6 % en punto de cocción tres cuartos, el 7.2% término medio y el 0.7 % rojo inglés.

**Tabla 28.** Forma de consumo de la carne fresca.

Tipo de carne	Porcentaje (%)				
	Asado	Empanizado	Frito	Al horno	Hervido
Puerco	40.5	4.6	24.7	12.6	17.7
Pavo	36.5	6.0	4.2	45.0	8.3
Pollo	35.5	24.9	10.3	7.4	21.8
Res	53.0	13.3	13.1	7.0	13.6

El tercer puesto lo ocupan los productos lácteos con un 92 % (n= 1103) de la población que los consume, siendo la leche el producto preferido de los cuatro analizados (53.1 %, n= 586), seguido del queso (32.5 %, n= 359), yogurt (12.9 %, n= 138) y mantequilla (1.5 %, n= 15).

n=142) y crema de leche (1.5 %, n=16). La crema (37.5 %) y el yogurt (22.4 %) se consumen con mayor frecuencia (Figura 14C). De manera general la mayoría de las personas consumen una porción diaria de cada uno de los productos lácteos (Figura 15D). La mayoría de la población encuestada compra productos lácteos pasteurizados como leche (91.9 %), yogurt (86.3 %), crema (82.8 %) y queso (72.1 %); mientras que un 2.6 %, 3.0 %, 3.3 % y 6.8 %, respectivamente, los compra sin pasteurizar. El resto de los encuestados desconocen si se realiza este proceso. En el caso particular de los quesos, los quesos frescos se consumen con mayor frecuencia (84.3 %) que los madurados (15.7 %). En México los quesos frescos son el tipo de queso que se ha asociado con mayor frecuencia a la contaminación con *S. enterica*. Estudios recientes han reportado una prevalencia de *S. enterica* en queso fresco que oscila entre el 1.1 % y 30.3 % (Charles-Hernández *et al.*, 2007; Miranda *et al.*, 2009; M. R. Torres-Vitela *et al.*, 2012).

En el penúltimo puesto, se encuentran los productos cárnicos procesados con un porcentaje de consumo del 81.7 % (n=980), siendo el jamón el producto preferido de los cuatro evaluados (75.4 %), seguido del chorizo (11.1 %), salchicha (10.9 %) y tocino (2.6 %). El tocino y el chorizo son los menos consumidos, mientras que el 26.4 % consume jamón dos veces a la semana y el 37.9 % salchicha una vez a la semana (Figura 14D). Cuando la gente consume este tipo de productos en su mayoría ingiere una porción (Figura 15E). La forma de consumo de los productos cárnicos varía de acuerdo con el tipo de producto. El jamón se consume principalmente directo del empaque (61.2 %), mientras que el tocino (74.8 %), chorizo (66.4 %) y salchicha (52.8 %) se consumen asados y/o cocidos (Tabla 29).

**Tabla 29.** Forma de consumo de los productos cárnicos procesados.

Producto cárnico procesado	Porcentaje (%)		
	Directo del empaque	Cocinado/Asado	Guisado
Chorizo	2.1	66.4	31.5
Jamón	61.2	21.9	16.9
Salchicha	29.9	52.5	17.6
Tocino	5.1	74.8	20.1

Por último, el grupo de alimentos que menos personas consumen son los pescados y mariscos (79.9 %, n=958). La frecuencia de consumo de estos productos es muy variable. El atún se consume principalmente una vez a la semana (25.7 %), el filete de pescado dos veces al mes (23.4 %) y el camarón (23.0 %) y los mariscos de concha (24.7 %) menos de una vez al mes (Figura 14E).

El consumo promedio del atún, camarón y pescado es de una porción, que en el caso del atún es equivalente a una lata (100 g) y en el del camarón y filete de pescado de 150 g (Figura 15F). Con excepción del atún que se compra en su mayoría enlatado, este tipo de productos se compra en crudo (Tabla 30). Sin embargo, un menor porcentaje se consume crudo. De los cuatro productos los mariscos de cocha son los que se consumen con mayor frecuencia en crudo (21.7 %) (Tabla 31).

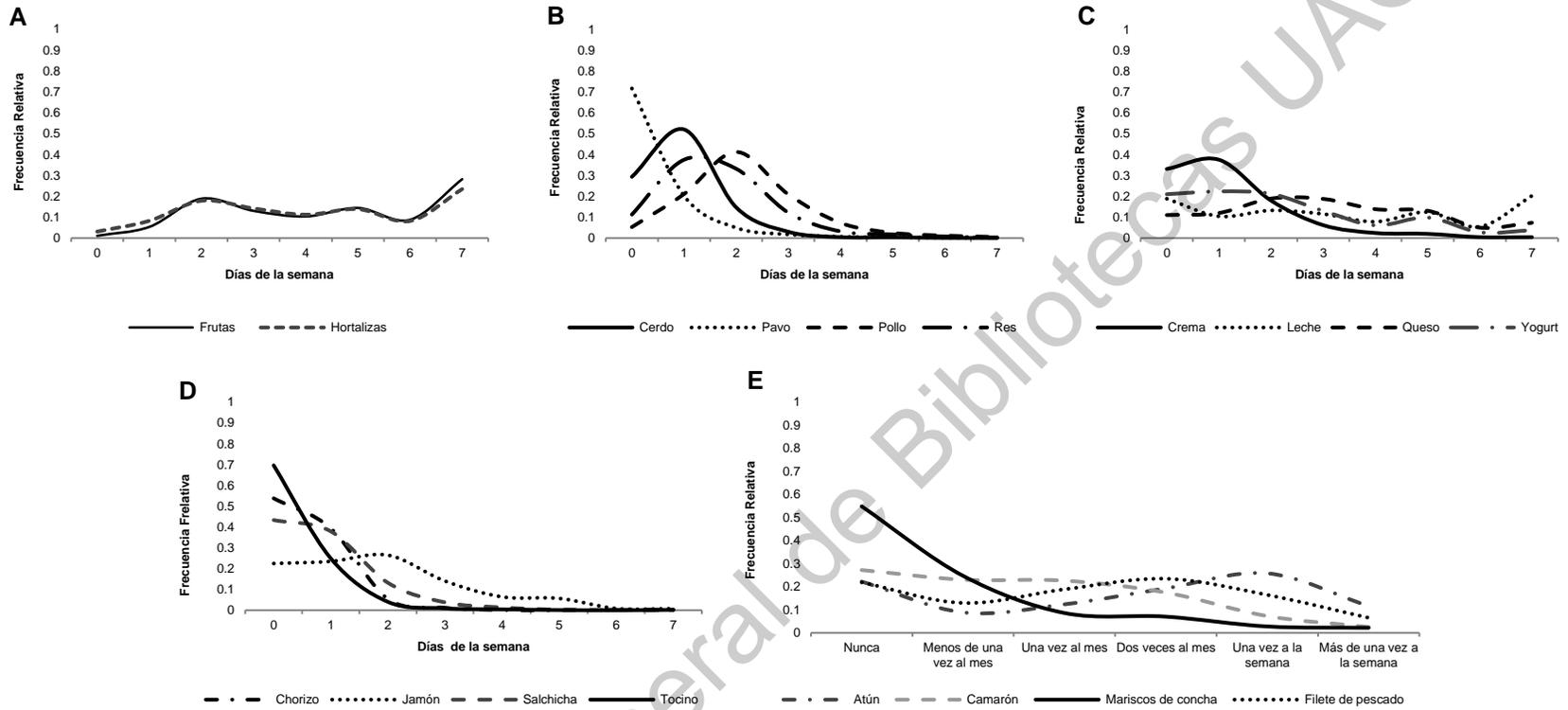
**Tabla 30.** Forma de compra de pescados y mariscos.

Pescados y mariscos	Porcentaje (%)					
	Crudo	Precocido	Cocido	Congelado	Enlatado	Salmuera
Atún	12.9	4.0	9.6	4.6	67.4	1.4
Camarón	42.9	17.7	18.6	19.8	0.1	0.9
Mariscos de concha	52.2	7.2	25.2	12.0	2.5	1.0
Pescado	52.3	3.1	18.5	25.5	0.4	0.3

**Tabla 31.** Forma de consumo de pescados y mariscos.

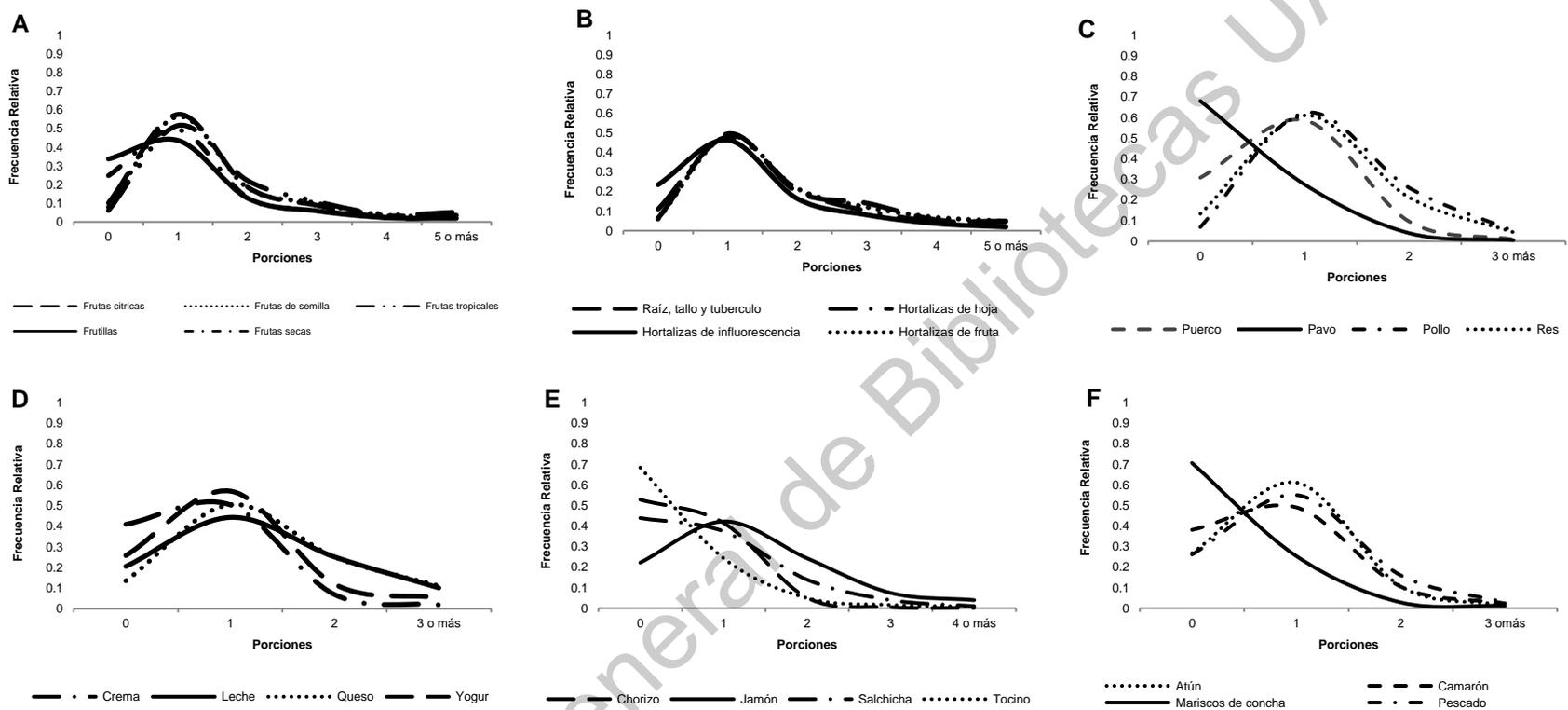
Pescados y mariscos	Porcentaje (%)					
	Asado	Empanizado	Frito	Cocido	Crudo	Del empaque
Atún	11.8	2.2	14.7	8.4	8.8	54.1
Camarón	18.2	19.7	14.4	40.4	6.4	0.8
Mariscos de concha	16.5	6.3	7.8	42.7	21.7	5.0
Pescado	31.1	22.2	26.5	18.5	1.3	0.3

Con la información de la frecuencia de consumo y porciones de consumo se estimó el consumo *per cápita* (Figura 16).



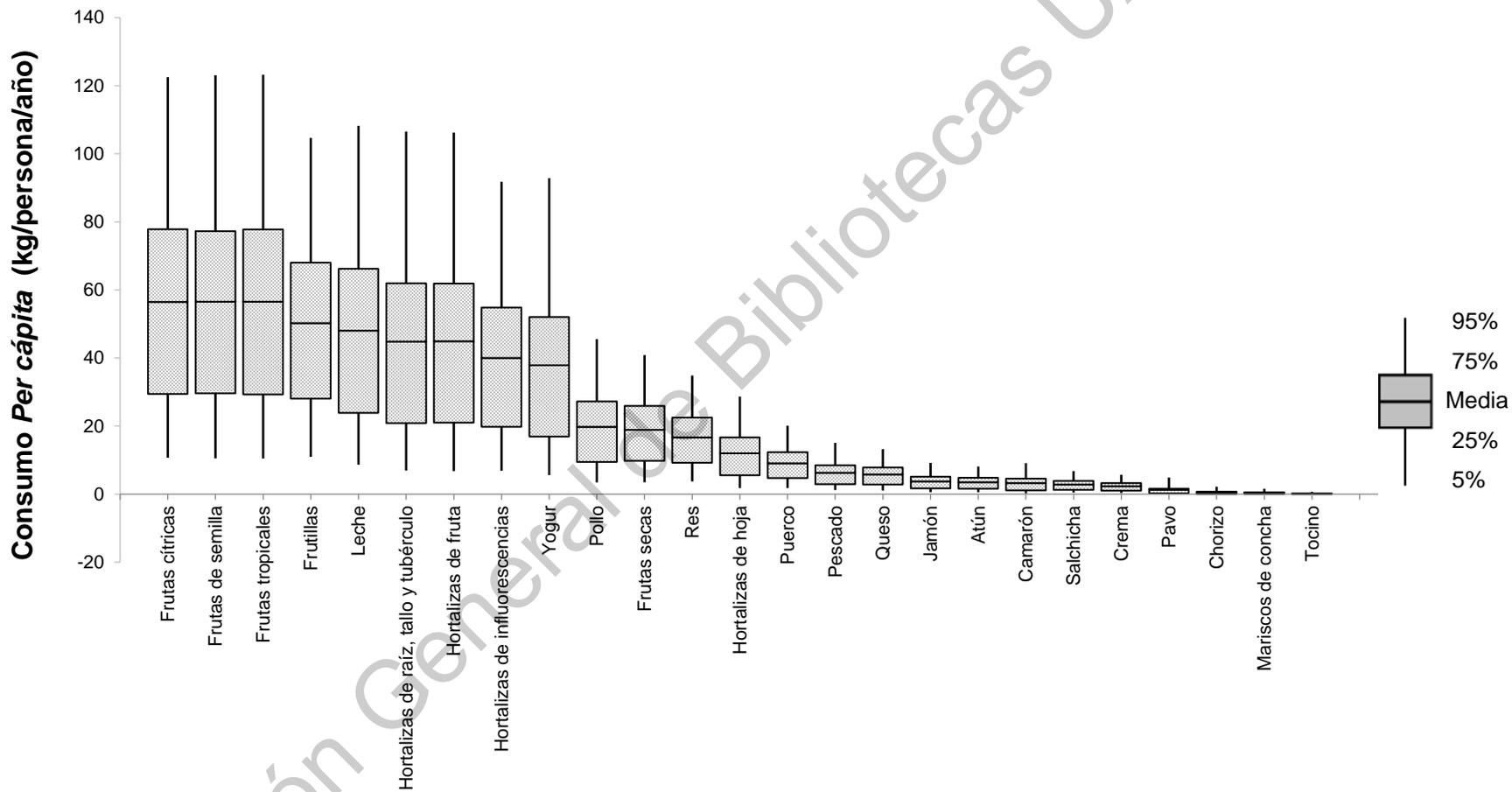
**Figura 14.** Distribución de la frecuencia de consumo de los diversos grupos de alimentos

A) Frutas y hortalizas; B) Carnes frescas; C) Productos lácteos; D) Productos cárnicos; E) Pescados y mariscos.



**Figura 15.** Distribución de las porciones de consumo de los diversos grupos de alimentos.

A) Frutas: Una porción es una a una taza de frutas frescas (150 g) o 1/2 taza de frutas secas (50 g). B) Hortalizas: una porción es un manojo de hortalizas de hoja (40 g) o una copa de vegetales frescos (150 g). C) Carnes: una porción son 150 g (equivalente a un pedazo de carne de hamburguesa, una pechuga de pollo sin hueso, un filete o una pieza). D) Productos lácteos: una porción es un vaso de leche o yogur (250 mL), dos cucharas soperas de crema (30 g) o una rebanada o cubo de queso (30 g). E) Productos cárnicos: Una pieza es igual a una unidad de chorizo (100 g), una rebanada de jamón (25 g), una salchicha (40 g) o una tira de tocino (20 g). F) Pescados y mariscos: una porción es igual a una lata de atún (100 g), una taza de camarones o mariscos de concha (150 g) o un filete de pescado (150 g).

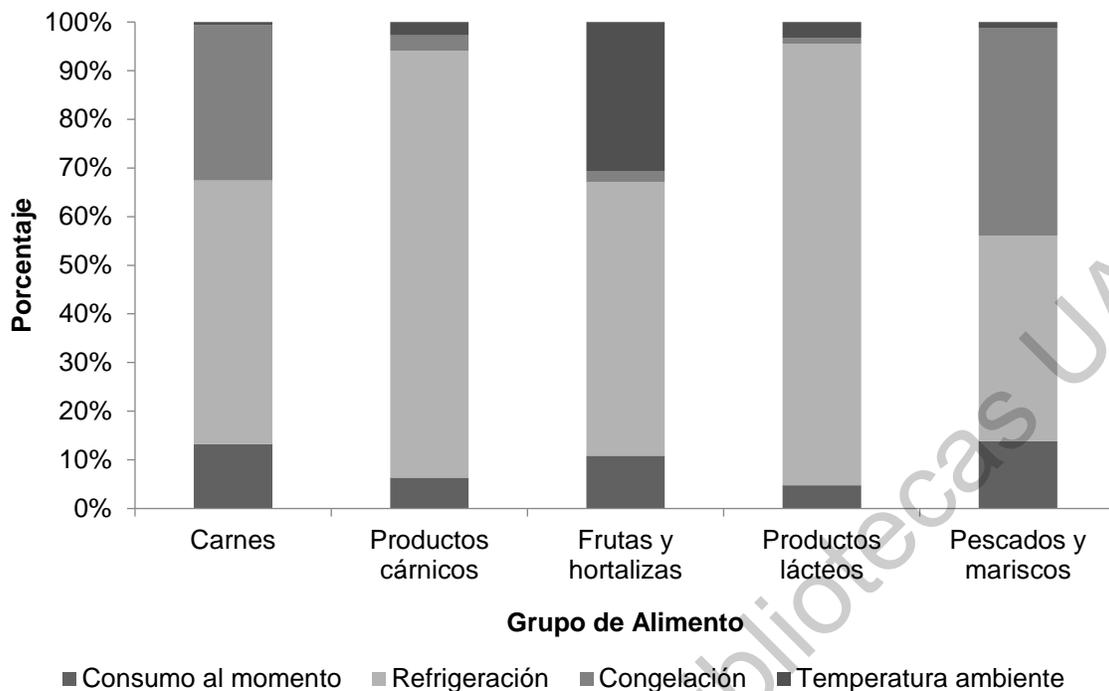


**Figura 16.** Consumo *per cápita* de diferentes alimentos en el centro del país

### **Tercera sección: Hábitos de preparación y almacenamiento de alimentos**

Estudios epidemiológicos en Europa, Norte América, Australia y Nueva Zelanda atribuyen más del 87 % de los casos de enfermedad por el consumo de alimentos a las inapropiadas prácticas de manipulación de alimentos en el hogar (Redmond & Griffith, 2003). A pesar de ello estudios previos han reportado que existe poca asociación por parte de los consumidores entre la enfermedad causada por consumir de alimentos en el hogar y las inadecuadas prácticas de manipulación de alimentos (Cody & Hogue, 2003; Fein, Lin, & Levy, 1995); sin embargo, existe una clara asociación entre el consumo de alimentos en restaurantes y la enfermedad (Fein, Lin, & Levy, 1995). Sin embargo, se ha reportado que este tipo de casos sucede tres veces más en el hogar que en cafeterías (Redmond & Griffith, 2003).

Una de las prácticas de manipulación de alimentos más importantes para controlar la inocuidad de los mismos es la forma de almacenamiento (Hillers *et al.*, 2003). Por lo cual, conocer la temperatura y el tiempo de almacenamiento ayudará a estimar el potencial desarrollo de patógenos. La OMS ha reportado que el 32 % de los brotes por el consumo de alimentos se ha asociado al abuso de temperatura (Tirado & Schmidt, 2001). La refrigeración es la temperatura de almacenamiento más común en la que se almacenan los cinco grupos de alimentos (Figura 17). Li-Cohen y Bruhn (2002) encontraron que la mayoría de la población almacena en refrigeración los productos hortofrutícolas, mientras que la carne de res, ave y pescado se almacena preferentemente en congelación y luego en refrigeración. Esto puede deberse a que los consumidores perciben que un inapropiado almacenamiento representa un peligro a la salud (Angelillo, Foresta, Scozzafava, & Pavia, 2001). A pesar de esto se ha observado que no siempre se traslada a la práctica (Towns, Cullen, Memken, & Nnakwe, 2006).

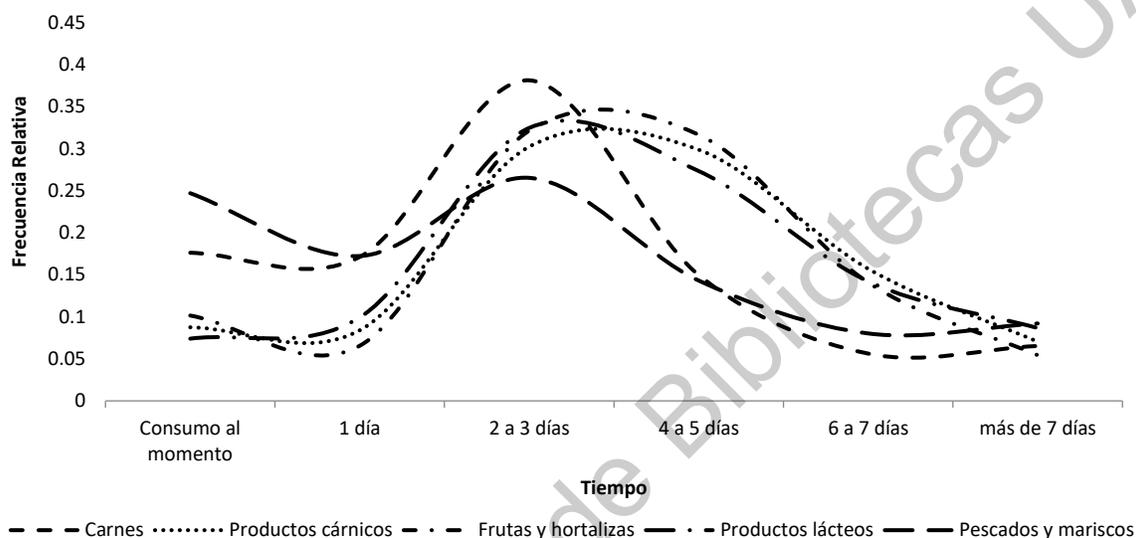


**Figura 17.** Forma de almacenamiento de cinco grupos de alimentos en el hogar.

Algunos estudios han estimado mediante encuestas de población y medición de temperaturas de refrigeradores domésticos y alimentos almacenados en ellos, que la mayoría de los consumidores desconocen la temperatura adecuada de almacenamiento y que los refrigeradores trabajan a temperaturas inadecuadas (Evans & Redmond, 2015, 2016; Marklinder, Lindblad, Eriksson, Finnson, & Lindqvist, 2004; Redmond EC, 2003; Terpstra, Steenbekkers, De Maertelaere, & Nijhuis, 2005). Un ejemplo de ello, fue un estudio realizado en Guadalajara, donde se halló que el 38.5 % de los refrigeradores estaban a temperaturas superiores a los 7 °C y el 14.5 % a temperaturas superiores a los 12 °C (Macías-Rodríguez *et al.*, 2013), temperatura a la cuál *S. enterica* puede crecer.

El tiempo de almacenamiento de los alimentos a pesar de ser variable entre los grupos tendió a estar entre 2 y 3 días (Figura 18). Con los resultados obtenidos en este estudio observamos que los consumidores mexicanos tienden almacenar productos listos para el consumo como jamón y queso por periodos más largos que en otros países. Un estudio en Reino Unido reportó que la mayoría de los

consumidores almacena los productos listos para el consumo siguiendo las instrucciones del empaque y perciben que es seguro comer este tipo de productos hasta dos días después de la compra (Evans & Redmond, 2016). Mientras que un estudio en Suecia, la mayoría de las personas mantienen en almacenamiento un día productos perecederos como: carne molida, pescado fresco y ensaladas listas para el consumo (Marklinder, Lindblad, Eriksson, Finnson, & Lindqvist, 2004).



**Figura 18.** Tiempo de almacenamiento en refrigeración de cinco grupos de alimentos.

Además del abuso de temperatura en refrigeradores domésticos, la baja periodicidad de limpieza del equipo puede ser otro factor de riesgo ya que puede influir en fenómenos de contaminación. En este estudio se encontró que el 84.3 % de los consumidores lava este equipo al menos una vez al mes (Tabla 32). En otros estudios se ha encontrado que alrededor de la mitad de la población lava al menos una vez al mes el equipo (Kosa, Cates, Karns, Godwin, & Chambers, 2007; Li-Cohen & Bruhn, 2002).

La higiene personal como la adecuada limpieza y desinfección de los utensilios de cocina son indispensables para evitar la contaminación cruzada durante la manipulación de los alimentos. En este estudio se encontró que el hábito de lavarse siempre las manos previo a la preparación de alimentos está muy establecido en la población (86.4 %), mientras que la desinfección de las manos está poco arraigada (37.8 %) (Tabla 32).

En otros países se ha reportado una amplia variabilidad en la actividad de lavarse siempre las manos previo a la preparación de alimentos (53 %-92 %) (Garayoa, Córdoba, García-Jalón, Sanchez-Villegas, & Vitas, 2005; Li-Cohen & Bruhn, 2002; Lin, Jensen, & Yen, 2005; Redmond & Griffith, 2003; Roseman & Kurzynske, 2006; Sanlier, 2009).

Por otro lado, en cuestión de los utensilios, la encuesta reveló que la mayoría de las personas limpian los utensilios de cocina (esponja y el trapo) más una vez a la semana (70.2-73.2 %), pero alrededor de un tercio de la población los lavan solo una vez a la semana o menos de una vez a la semana, aumentando la probabilidad de que estos puedan convertirse en una fuente de contaminación. En México, se ha encontrado la presencia de *S. enterica* en cocinas domésticas, tanto en trapos, estantería y cajones (Macías-Rodríguez *et al.*, 2013), por lo que conocer estos hábitos de limpieza es indispensable para poder asociar la presencia de patógenos con la frecuencia de limpieza.

El lavado con agua caliente y jabón de cuchillos, tablas y superficies después del contacto con pollo, carne y pescado fresco es una de las prácticas más importantes para evitar en el hogar la contaminación cruzada con *S. enterica* (Hillers *et al.*, 2003). En el estudio se observó que un 16.9 % y 13.0 % de las personas tienden a usar la misma tabla y cuchillo, mientras que un 39.1 % y 38.1 % los lavan con agua y jabón, respectivamente (Tabla 32). En otros estudios se ha encontrado que entre el 19.7 % y el 67.1 % de los consumidores siempre lavan con jabón y agua los utensilios cuando los usan para picar carne cruda y cocida (Garayoa *et al.*, 2005; Mitakakis *et al.*, 2004; Murray *et al.*, 2017).

El empleo adecuado de estos utensilios es importante ya que se ha encontrado altas tasas de transferencia a partir de pollo contaminado con *S. enterica* cuando se emplea la misma tabla y cuchillo para picar el pollo crudo y posteriormente lechuga tanto como cuando solo se enjuagan con agua caliente (Ravishankar, Zhu, & Jaroni, 2010). De la misma forma algunos estudios han mostrado que a pesar de que se lavan estos utensilios con agua y jabón se ha logrado recuperar *S. enterica* de los mismos (Ravishankar, Zhu, & Jaroni, 2010;

Gkana, Lianou, & Nychas, 2016), por lo cual es recomendable separar tablas y cuchillos de picar para productos crudos como carnes y productos ya cocinados.

Finalmente se evaluó la asociación entre el sexo y la edad con las prácticas de manipulación de almacenamiento de la Tabla 33. El sexo tuvo un efecto estadísticamente significativo en todas las prácticas, siendo las mujeres de forma general las que tienen las prácticas más seguras. Las mujeres limpian con mayor frecuencia el refrigerador, esponja y trapo de cocina. De la misma forma las mujeres tienden más a lavar o usar utensilios nuevos y limpios para picar productos diferentes. En el caso de las prácticas de higiene personal la frecuencia del lavado de manos previo a la preparación de alimentos es mayor en las mujeres. En cuestión de la edad se observó que los consumidores entre 20 y 24 años son los que con menor frecuencia limpian el refrigerador y la esponja, y usan la misma tabla para picar dos productos. En el caso de la desinfección previo al consumo los adultos entre 60 y 64 años son los que en su mayoría nunca realizan esta práctica (Tabla 23). Otros estudios muestran resultados similares, encontrando que los jóvenes (Røssvoll *et al.*, 2013; Murray *et al.*, 2017; Garayoa *et al.*, 2005), adultos mayores (Røssvoll *et al.*, 2013) y los hombres (Røssvoll *et al.*, 2013; Roseman & Kurzynske, 2006; Garayoa *et al.*, 2005; Patil *et al.*, 2004) tienen las practicas más inseguras durante la preparación de alimentos.

**Tabla 32.** Prácticas de manipulación de alimentos en el hogar.

<b>Higiene personal</b>	<b>Siempre</b>	<b>Casi siempre</b>	<b>Algunas veces</b>	<b>Rara vez</b>	<b>Nunca</b>
Lavado de manos	86.4	11.1	1.8	0.5	0.3
Desinfección de manos	37.8	18.7	19.3	12.4	11.8
<b>Limpieza de equipos y utensilios</b>	<b>Más de una vez a la semana</b>	<b>Una vez a la semana</b>	<b>Dos veces al mes</b>	<b>Una vez al mes</b>	<b>Menos de una vez al mes</b>
Refrigerador	4.5	28.3	24.6	26.9	15.8
Esponja	70.2	18.5	3.9	3.2	4.2
Trapo	73.7	19.0	3.9	1.8	1.6
<b>Manipulación de utensilios</b>	<b>Lavado</b>	<b>Enjuagado con agua</b>	<b>El mismo</b>	<b>Uno nuevo y limpio</b>	
Tabla de picar	39.1	19.8	16.9	24.2	
Cuchillo	38.1	20.8	13.0	28.1	

**Tabla 33.** Asociación de las prácticas de manipulación de alimentos en el hogar entre el sexo y la edad.

Práctica de manipulación de alimentos	Sexo (p)	Edad (p)
Frecuencia de lavado del refrigerador	<0.0001*	0.0334*
Frecuencia del lavado de la esponja	0.0341*	0.0122*
Frecuencia del lavado de trapo de cocina	<0.0001*	0.3171
Uso de la tabla de cocina al picar dos productos diferentes	<0.0001*	0.0037*
Uso del cuchillo al picar dos productos diferentes	<0.0001*	0.2541
Frecuencia del lavado de manos previo a la preparación de alimentos	0.0177*	0.2092
Frecuencia de la desinfección de manos previo a la preparación de alimentos	0.0369*	0.0007*

#### **Cuarta sección: Autopercepción del padecimiento de ETAs y salmonelosis, y su asociación con el consumo de alimentos y características demográficas**

La mayoría de los encuestados (69.55 %, n= 834) mencionó que alguna vez se ha enfermado por el consumo de alimentos y cerca del 20 % reportó haber padecido salmonelosis (17.3 %, n= 208). En el caso de las personas que reportaron haber padecido salmonelosis, la mayoría indicó haberse enfermado una vez en su vida (64.4 %, n= 134), el 28.9 % (n= 60) dos o tres veces, y el 6.7 % (n= 4) más de tres. Desafortunadamente se desconoce si estos casos fueron clínicamente diagnosticados.

Las carnes frescas fue el alimento más asociado por el consumidor con este padecimiento (n= 89), seguido por las frutas y hortalizas (n= 64), pescados y mariscos (n= 53), productos lácteos (n= 21) y embutidos (n= 15). Es importante resaltar que los dos grupos de alimentos más asociados con *S. enterica* son de los más consumidos por la población. En otros estudios la carne de pollo ha sido el alimento más asociado por parte de los consumidores con el riesgo de enfermar de *Salmonella* (Miles & Frewer, 2001; Yeung & Morris, 2001). También, la carne de res y productos de res han sido altamente asociados por los consumidores con este patógeno (Miles & Frewer, 2001). En otros estudios los alimentos más asociados con ETAs han sido el pollo y las hamburguesas (Murray *et al.*, 2017). En el caso de *Listeria monocytogenes*, también los consumidores han asociado la carne cruda en

primer lugar y las frutas y hortalizas en segundo lugar como vehículo del patógeno (Cates *et al.*, 2006).

En México la prevalencia de *S. enterica* en carne cruda de puerco, pollo y res va del 13.3 % al 58.1 %; 4.5 % al 63.2 %; y res 6.1 % al 54 %, respectivamente (Cabrera-Diaz *et al.*, 2013; Charles-Hernández, Medina-Solís, & Hernández-Romano, 2007; Miranda *et al.*, 2009; Nayarit-Ballesteros *et al.*, 2016; Perez-Montaña *et al.*, 2012; Rodriguez-Ceniceros, Gomez Hernandez, & Vazquez Sandoval, 2016; Villalpando-Guzmán *et al.*, 2017; Zaidi *et al.*, 2006).

La asociación estadística demostró que el nivel de estudios y la autopercepción del padecimiento de enfermedades gastrointestinales tuvieron un efecto sobre la percepción de los dos padecimientos, encontrando que la percepción de enfermar era directamente proporcional al grado académico y al padecimiento de enfermedades gastrointestinales (Tabla 34). Esto puede deberse a que las personas con una mayor preparación conocen más sobre esta enfermedad y al sufrir de este padecimiento tienden a ir más a centros de salud y cuentan con los recursos económicos necesarios para poder asistir al médico y tener un diagnóstico. Lin, Jensen, & Yen (2005) reportaron que el conocimiento de este patógeno está relacionado con el nivel educativo y económico, sugiriendo que esto se debe a que las personas con menor grado académico y bajo nivel de ingresos tienen un menor acceso a información sobre seguridad alimentaria.

**Tabla 34.** Asociación entre la autopercepción de padecer ETAs y salmonelosis con las características demográficas.

Características generales		Autopercepción de padecer salmonelosis <sup>1</sup>								Autopercepción de padecer ETAs <sup>1</sup>							
		Total		Si		No		No sé <sup>2</sup>		Valor <i>p</i>	Si		No		No sé <sup>2</sup>		Valor <i>p</i>
Variable		N	%	N	%	N	%	N	%		N	%	N	%	N	%	
Sexo	Mujer	739	61.6	128	17.3	551	74.6	60	8.1	0.9356	506	68.5	199	26.9	34	4.6	0.0718
	Hombre	460	38.4	80	17.4	340	73.9	40	8.7		328	71.3	100	21.7	32	7.0	
Nivel de estudios	Ninguno	1	0.1	0	0.0	1	100.0	0	0.0	0.0004*	0	0.0	1	100.0	0	0.0	<0.0001*
	Primaria	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0		0	0.0	0	0.0	0	0.0	
	Secundaria	15	1.3	0	0.0	14	93.3	1	6.7		4	26.7	10	66.7	1	6.7	
	Preparatoria	142	11.8	16	11.3	117	82.4	9	6.3		89	62.7	44	31.0	9	6.3	
	Universidad	724	60.4	115	15.9	550	76.0	59	8.1		500	69.1	183	25.3	41	5.7	
	Posgrado	317	26.4	77	24.3	209	65.9	31	9.8		241	76.0	61	19.2	15	4.7	
Edad	< 14 años	3	0.2	0	0.0	3	100.0	0	0.0	<0.0001*	2	66.7	1	33.3	0	0.0	0.1574
	15- 19 años	120	10.0	10	8.3	100	83.3	10	8.3		81	67.5	32	26.7	7	5.8	
	20- 24 años	245	20.4	27	11.0	195	79.6	23	9.4		166	67.8	65	26.5	14	5.8	
	25 a 29 años	340	28.4	53	15.6	261	76.8	26	7.6		243	71.5	79	23.2	18	5.3	
	30 a 34 años	185	15.4	36	19.5	132	71.3	17	9.2		132	71.3	44	23.8	9	4.9	
	35 a 39 años	81	6.8	16	19.8	56	69.1	9	11.1		51	63.0	25	30.8	5	6.2	
	40 a 44 años	78	6.5	19	24.4	55	70.5	4	5.1		55	70.5	18	23.1	5	6.4	
	45 a 49 años	56	4.7	20	35.7	34	60.7	2	3.6		39	69.6	16	28.6	1	1.8	
	50 a 54 años	40	3.3	13	32.5	24	60.0	3	7.5		29	72.5	8	20	3	7.5	
	55 a 59 años	24	2.0	7	29.2	15	62.5	2	8.3		15	62.5	8	33.3	1	4.2	
60 a 64 años	18	1.5	3	16.7	11	61.1	4	22.2	14	77.8	2	11.1	2	11.1			
>65 años	9	0.8	4	44.4	5	55.6	0	0.0	7	77.8	1	11.1	1	11.1			
Padecimiento de enfermedades gastrointestinales	Si	481	40.1	106	22.0	343	71.3	32	6.7	0.0005*	350	72.8	107	22.2	24	5.0	0.0334*
	No	661	55.1	92	13.9	514	77.8	55	8.3		441	66.7	182	27.5	38	5.7	
	No sé <sup>2</sup>	57	4.8	10	17.5	34	59.6	13	22.8		43	75.4	10	17.5	4	7.0	
Padecimiento de enfermedades crónico-degenerativas	Si	126	10.5	25	19.8	88	69.8	13	10.3	0.3202	90	71.4	26	20.6	10	7.9	0.2852
	No	1027	85.7	173	16.8	774	75.4	80	7.8		712	69.3	264	25.7	51	5.0	
	No sé <sup>2</sup>	46	3.8	10	21.7	29	63.0	7	15.2		32	69.6	9	19.6	5	10.9	

Prueba Chi-cuadrada (Pearson), <sup>2</sup> No se incluyó los datos de las personas que no saben si padecen o padecieron alguna de las enfermedades.

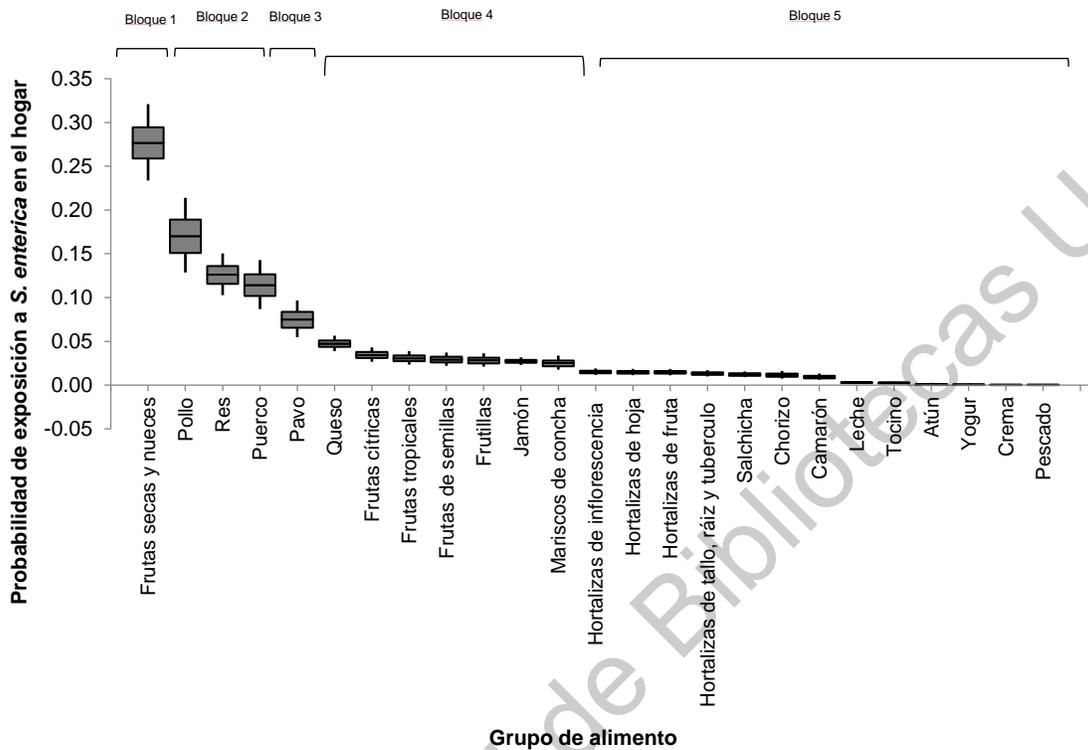
## 7.2 Priorización del riesgo de grupos de alimentos asociados a *S. enterica* en la región centro de México

Para la priorización del riesgo de grupos de alimentos asociados con *S. enterica* se emplearon 4 criterios  $Pe$ ,  $Pd$ ,  $Pp$  y  $Pb$ , de los cuales  $Pe$  que evalúa la probabilidad de la exposición de *S. enterica* en el hogar a través del consumo de alimentos, fue el que tuvo mayor influencia sobre el puntaje final. Mientras que  $Pb$ , que evalúa la probabilidad de que un brote de *S. enterica* sea causado por un alimento específico, fue el criterio que tuvo una mayor variabilidad en el peso otorgado por el panel, esto podría estar asociado a la falta de información que hay sobre brotes en nuestro país como en el resto de Latinoamérica.

Para la estimación de  $Pe$  se tomó en cuenta la prevalencia y las prácticas de manipulación en el hogar para cada grupo de alimentos. En la Figura 19 se observa la  $Pe$  para todas las categorías dividida en bloques de acuerdo con su valor normalizado. Las frutas secas fueron el grupo con el mayor valor de  $Pe$  (0.277), siendo el único alimento en el primer bloque (valor normalizado (VN)=5). La prevalencia de *S. enterica* en este tipo de alimentos fue el factor que tuvo un mayor efecto sobre la  $Pe$  (coeficiente de regresión (CR)=0.99), es importante mencionar que estos alimentos en la mayoría de los casos se consumen sin un tratamiento previo, como alimentos listos para el consumo. En el segundo bloque (VN=4) se encontraron todas las carnes frescas (pollo 0.170, res 0.126, puerco 0.114) con excepción de la carne de pavo (0.075) que se encuentra en el tercer bloque (VN=3). Para las carnes frescas los escenarios de contaminación cruzada entre carne cruda y cocida cuando los utensilios son únicamente lavados mostraron el mayor impacto sobre la variabilidad de  $Pe$  (CR= 0.86 a 0.96).

El cuarto bloque (VN=2) está conformado por las frutas frescas, queso, jamón y mariscos de concha (0.025 a 0.047). En el último bloque (VN=1) se encontraron los siguientes alimentos: pescado, crema, yogur, atún, tocino, leche, camarón, hortalizas de raíz, tallo y tubérculo, salchicha, hortalizas de fruta, hortalizas de hoja, hortalizas de inflorescencia y chorizo. El chorizo a pesar de ser el alimento con la mayor prevalencia de *S. enterica* en México (52.9 %) de los

alimentos evaluados, debido a que rara vez se consume sin cocción obtuvo un valor pequeño de  $Pe$ .



**Figura 19.** Probabilidad de exposición ( $Pe$ ) a *S. enterica* en el hogar.

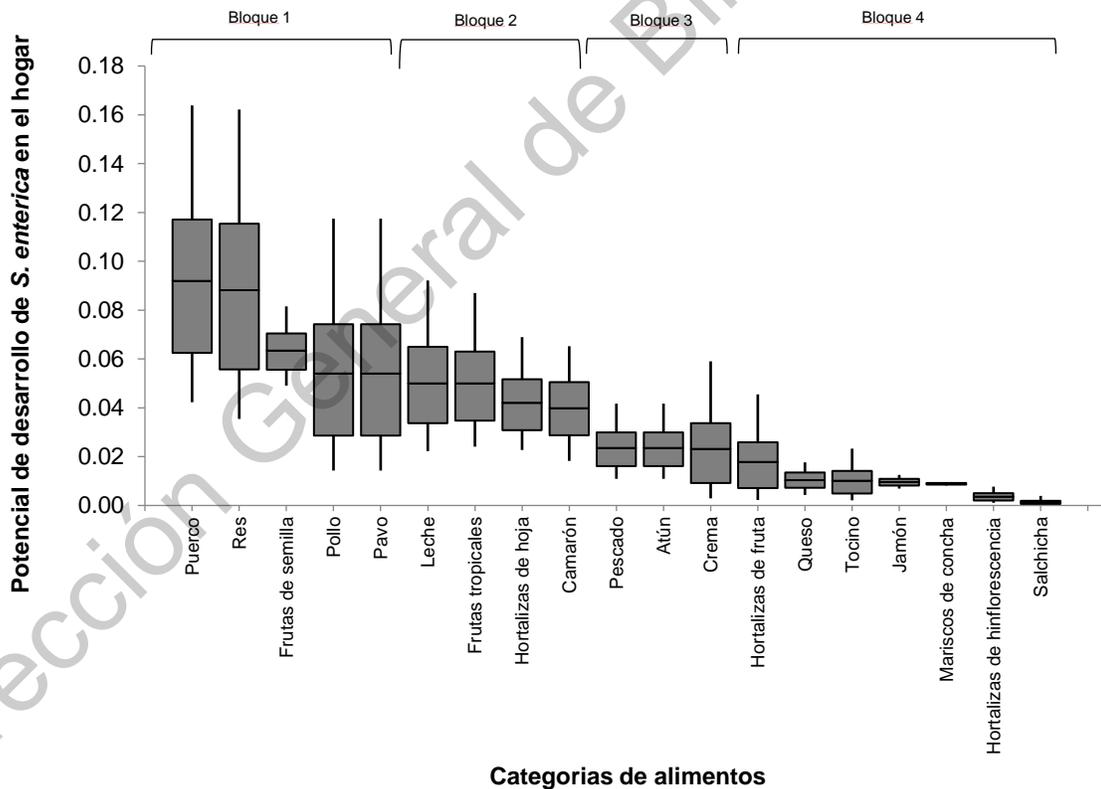
En el caso de  $Pd$ , la estimación de este criterio se realizó empleando modelos secundarios en condiciones de abuso de temperatura de refrigeración. Los modelos empleados se observan en la Tabla 35. Para el caso del tocino no se encontraron datos sobre el desarrollo de *S. enterica* en este alimento, únicamente un dato en Combase sobre la velocidad de desarrollo de este patógeno en tocino a 16 °C ( $0.033 \text{ h}^{-1}$ ). Por lo cual se empleó para este alimento un modelo secundario de un alimento subrogado, que fue chuleta de cerdo ya que este producto tuvo la velocidad de desarrollo más cercana al tocino a 16 °C ( $0.029 \text{ h}^{-1}$ ).

**Tabla 35.** Parámetros estimados para modelos secundarios del desarrollo de *S. enterica*.

Alimento	Modelo	Parámetros estimados	Características	Referencia
Puerco	$\sqrt{\mu \max} = b(T - T_{\min})$	b = 0.0356 T <sub>min</sub> °C = 2.33	Con datos entre 4 °C y 38 °C (molida)	Møller <i>et al.</i> , 2013
Pollo y pavo	$\sqrt{\mu \max} = b(T - T_{\min})$	b = 0.0399 T <sub>min</sub> °C = 5.11	Con datos entre 8 °C y 32 °C (molida)	Zaher & Fujikawa, 2011
Res	$\sqrt{\mu \max} = b(T - T_{\min})$	b = 0.0401 T <sub>min</sub> °C = 3.47	Con datos entre 8 °C y 36 °C (molida)	Sabike, Fujikawa, & Edris, 2015
Jamón (cocido)	$\sqrt{AGR} = \alpha + \beta_1 (lactate) + \beta_2(T) + \beta_3 (lactate * T) + \beta_4 (lactate)^2 + \beta_5(T)^2$	α= 0.092 β1=-0.183 β2= 0.047 β3= 0.004 β4= 0.013 β5=-0.001	Con datos entre 8 °C y 15 °C AGR= Promedio de la tasa de desarrollo Se empleo sin lactato	Hwang <i>et al.</i> , 2011
Salchicha (cocida)	$\ln(\mu) = b_0 + b_1T + b_2T^2$	b <sub>0</sub> = -12.67 b <sub>1</sub> =0.6535 b <sub>2</sub> =-0.009919	Con datos entre 10 °C y 40 °C	Oscar, 2008
Bacon	$\sqrt{\mu \max} = a + bT$	a= -0.10854 b=0.019057	Con datos entre 7.2 °C y 23 °C	Este estudio RMSE= 0.0138
Frutas de semilla	$\sqrt{\mu \max} = a + bT$	a=0.12888 b=0.011437	Con datos entre 8 °C y 20 °C (pera)	Este estudio RMSE= 0.051089
Frutas tropicales	$\sqrt{\mu \max} = b(T - T_{\min})$	b = 0.025 T <sub>min</sub> °C = 1.9	Con datos entre 10 °C y 30 °C (melón)	Rezende <i>et al.</i> , 2016
Hortalizas de hoja	$\sqrt{\mu \max} = b(T - T_{\min})$	b = 0.020 T <sub>min</sub> °C = 0.57	Con datos entre 7 °C y 37 °C	Mishra <i>et al.</i> , 2017

Hortalizas de inflorescencia	$\sqrt{\mu_{max}} = a + bT$	a=-0.046816 b=0.0098243	Con datos entre 7 °C y 15 °C (yakisoba compuesta de coliflor, broccoli, zanahoria, calabaza, acelga)	Este estudio RMSE=0.010
Hortalizas de fruta	$\sqrt{\mu_{max}} = b(T - T_{min})$	b=0.0297 T <sub>min</sub> °C =6.5185	Con datos entre 7 °C y 21 °C	Jung, 2018
Crema	$\sqrt{\mu_{max}} = a + bT$	a= -0.22005 b=0.033798	Con datos entre 7.9 °C y 12 °C	Este estudio RMSE= 0.0037518
Leche	$\sqrt{\mu_{max}} = a + bT$	a = -0.074571 b = 0.027604	Con datos entre 7 °C y 15 °C	Este estudio RMSE= 0.014207
Queso	$\sqrt{\mu_{max}} = a + bT$	a = -0.015134 b = 0.0023935	Con datos entre 10 °C y 20 °C	Este estudio RMSE= 0.0007
Camarón	$\sqrt{\mu_{max}} = a + bT$	a=-0.04985 b= 0.0084	Con datos entre 8 °C y 16 °C Se empleo sin timol o atmosfera modificada	Zhou <i>et al.</i> , 2015
Mariscos de concha	$\sqrt{\mu_{max}} = \alpha(T - T_{min})^{0.075}(1 - \exp(b(T - T_{max})))$	$\alpha = 0.083$ b=0.313 T <sub>min</sub> °C = 4.99 T <sub>max</sub> °C = 48.05	Con datos entre 4 °C y 43°C	Fang <i>et al.</i> , 2015
Pescado y atún	$\sqrt{\mu_{max}} = a + bT$	a=-0.039956 b=0.017821	Con datos entre 10 °C y 25 °C	Este estudio RMSE=0.064605

En la Figura 20 se muestra la *Pd* de *S. enterica* entre 7.1 °C y 15 °C en los diferentes alimentos. En el primer bloque se encuentran las carnes frescas y las hortalizas de semillas. Diversos estudios han evaluado la capacidad que tiene *S. enterica* para desarrollar en la carne fresca a pesar de la presencia de microbiota (Dominguez & Schaffner, 2008; Ingham *et al.*, 2007; Juneja *et al.*, 2009, 2007; Møller *et al.*, 2013; Oscar, 2007; Zaher & Fujikawa, 2011). Por otro lado, las frutas de semilla son un excelente sustrato para el desarrollo debido a la presencia de azúcares simples y el pH cercano a la neutralidad. La disminución del *Pd* en las diferentes categorías se asocia principalmente con el pH, así como la disposición de nutrientes. El bloque 5 no se observa en la gráfica ya que este representa aquellos alimentos que no permiten el desarrollo del patógeno (frutas cítricas, frutillas, frutas secas, hortalizas de tallo, raíz y tubérculo, yogur y chorizo).



**Figura 20.** Potencial de desarrollo (*Pd*) de *S. enterica* en los diferentes alimentos.

El tercer criterio,  $Pp$ , que es el consumo per cápita fue obtenido con la encuesta que se desarrolló en el apartado anterior (Figura 16). Empleando la normalización en el primer bloque se encuentran la mayoría de las frutas y hortalizas (frutas cítricas, frutas de semilla, frutas tropicales, frutilla, hortalizas de tallo, raíz y tubérculos, hortalizas de inflorescencia, leche y yogur). En el segundo bloque se encuentran las frutas secas, hortalizas de hoja, pollo y res; en el tercero al puerco, pescado y queso, en el cuarto al jamón, atún, camarón, salchicha, crema y pavo; y por último en el quinto bloque se encontró chorizo, mariscos de concha y tocino. Es importante remarcar que en el caso de las frutas y hortalizas cada uno de los subgrupos contiene más de tres alimentos, por lo cual el consumo es mayor.

En la Tabla 36 se muestra la comparación del consumo *per cápita* obtenido en este estudio mediante una encuesta y el estimado empleando la producción en México. Con excepción de las frutillas y frutas secas, la estimación de este estudio es mucho mayor a la obtenida mediante la evaluación de la producción, el consumo *per cápita* calculado se encuentra dentro del intervalo del 90 % de credibilidad.

Finalmente, el criterio número 4,  $Pb$ , se enfoca en la probabilidad de que un alimento contaminado con *S. enterica* cause un brote. Dada la falta de información en nuestro país se emplearon las probabilidades estimadas por Pires *et al.* (2012), las cuales fueron obtenidas de la recopilación de brotes en Latinoamérica y el Caribe (Tabla 37). Empleando esta información los productos cárnicos procesados, son los alimentos más asociados con los brotes. Estos resultados son similares a lo encontrado en Estados Unidos, Inglaterra, Europa y Japón, donde las carnes frescas y sus productos procesados son los más implicados, sin contemplar los productos complejos y los huevos, que no son tomados en cuenta en este estudio (Adak, Meakins, Yip, Lopman, & O'Brien, 2005; Andino & Hanning, 2015; Sara M. Pires, Vieira, Hald, & Cole, 2014; Sara Monteiro Pires, Vigre, Makela, & Hald, 2010; SNFA, 2018).

**Tabla 36.** Comparación del consumo *per cápita* obtenido mediante la encuesta y el reportado en México estimado mediante la producción en el país.

Categoría de alimento	Grupo de alimento	Estimación del consumo <i>per cápita</i>	Estimación del consumo <i>per cápita</i> SADER	Estimación del consumo <i>per cápita</i> por otros
Carnes frescas	Puerco	9.07 (1.8–20.11)	18	18.8***
	Pavo	1.30 (0.03-4.89)	--	1.3***
	Pollo	19.78 (3.45-45.57)	31.5	31.4***
	Res	16.68 (3.73–34.86)	15.2	14.8***
Productos cárnicos procesados	Chorizo	0.58 (0.01–2.18)	--	0.3***
	Jamón	3.75 (0.59-9.19)	--	3.2***
	Salchicha	2.84 (0.45–6.77)	--	3.7***
	Tocino	0.17 (0.00-0.67)	--	0.2***
Hortalizas y frutas	Frutas cítricas	56.48 (10.70-122.50)	55.3 <sup>a</sup>	
	Frutas de semilla	56.55 (10.53-123.08)	14.9 <sup>b</sup>	
	Frutas tropicales	56.55 (10.49-123.22)	58.6 <sup>c</sup>	
	Frutillas	50.23 (10.98-104.68)	5.46 <sup>d</sup>	
	Frutas secas y nueces	18.86 (3.49 – 40.85)	1.1 <sup>e</sup>	
	Hortalizas de tallo, raíz y tubérculos	44.86 (6.95-106.53)	44.86 <sup>f</sup>	

	Hortalizas de hoja	12.00 (1.81-28.68)	2.5 <sup>g</sup>
	Hortalizas de inflorescencia	39.98 (6.91-91.76)	32.6 <sup>h</sup>
	Hortalizas de fruta	44.94 (6.78-106.24)	45.4 <sup>i</sup>
Productos lácteos	Crema	2.35 (0.34-5.70)	1.4
	Leche	48.02 (8.66-108.22)	100.3 <sup>j</sup> , 33.4 leche fluida
	Queso	5.76 (1.08-13.22)	4.3
	Yogur	37.86 (5.60-92.84)	5.8
	Atún	3.47 (0.57-8.10)	1.1
Pescados y mariscos	Camarón	3.26 (0.26-9.10)	1.7
	Mariscos de concha	0.44 (0.01-1.59)	
	Pescado	6.27 (1.19-15.08)	6.6 <sup>k</sup>
	Total	13.44	13.2****

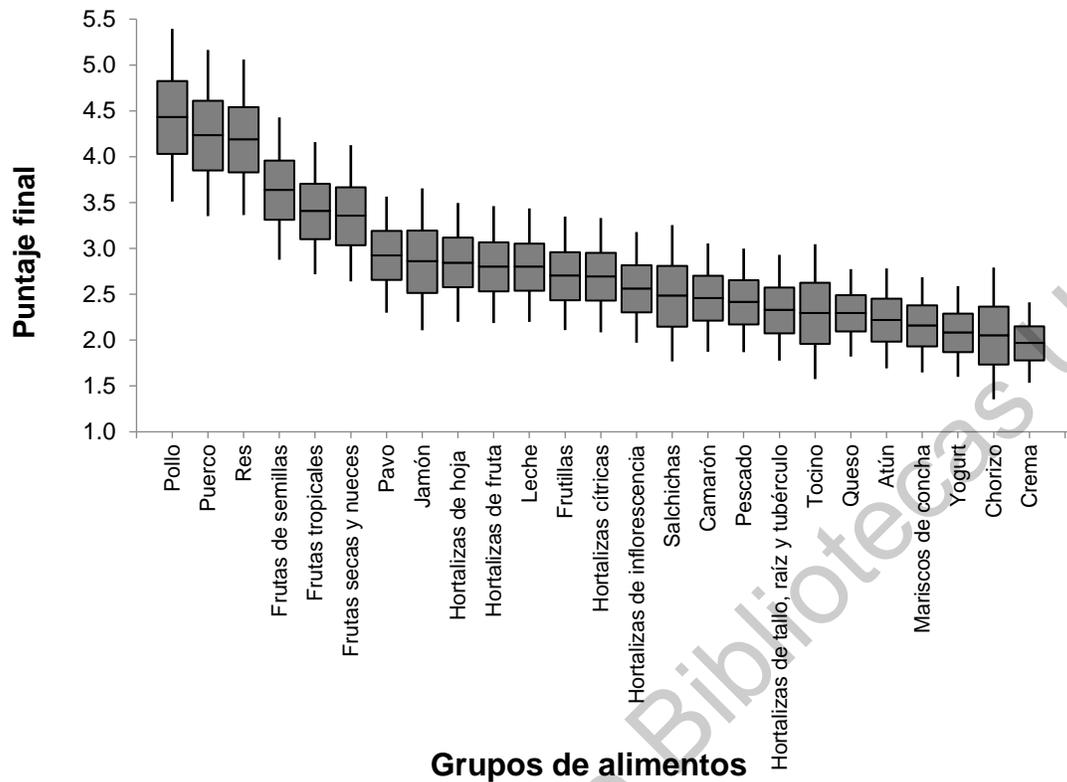
\*Media y el intervalo del 90 % de credibilidad que describe los percentiles de 5 % y 95 % (kg/año); \*\* Secretaria de Agricultura y Desarrollo Rural; SADER, El consumo es estimado tomando en cuenta la producción nacional, las importaciones y exportaciones dividido entre la población (2018) (SADER, 2019); \*\*\* Consejo mexicano de la carne; CoMeCarne) (COMECARNE, 2018); \*\*\*\* Consejo mexicano de promoción de los productos pesqueros y acuícolas; COMEPESCA) (COMEPESCA, 2018).

<sup>a</sup> Frutas cítricas incluyen limón, naranja y toronja; <sup>b</sup> Frutas de semilla incluyen durazno, guayaba, manzana, pera y uvas; <sup>c</sup> Frutas tropicales incluyen aguacate, mango, plátano, papaya, piña, melón, y sandía, <sup>d</sup> Frutillas incluyen arándano, frambuesa y mora; <sup>e</sup> Frutos secos incluyen nueces y uva pasa; <sup>f</sup> Hortalizas de tallo, raíz, y tubérculo incluyen papa, cebolla, esparrago, y nopalitos; <sup>g</sup> Hortalizas de hoja incluyen lechuga; <sup>h</sup> Hortaliza de inflorescencia incluye brócoli y coliflor; <sup>i</sup> Hortalizas de fruta incluyen berenjena, chile verde, calabacín, pepino, tomate y jitomate. <sup>j</sup> Leche de cabra y vaca; <sup>k</sup> Pescado incluye sardina y mojarra.

**Tabla 37.** Probabilidad de que *S. enterica* cause un brote por el consumo de un alimento en específico.

Categoría de alimento	Grupo de alimento	So por Pires <i>et al.</i> , 2012	Valor normalizado
Carnes frescas	Puerco	0.11	4
	Pavo	0.00	1
	Pollo	0.11	4
	Res	0.07	3
Productos cárnicos procesados	Chorizo	0.24	5
	Jamón	0.24	5
	Salchicha	0.24	5
	Tocino	0.24	5
	Frutas cítricas	0.08	3
	Frutas de semilla	0.08	3
Hortalizas y frutas	Frutas tropicales	0.08	3
	Frutillas	0.08	3
	Frutas secas y nueces	0.01	2
	Hortalizas de tallo, raíz y tubérculos	0.08	3
	Hortalizas de hoja	0.08	3
	Hortalizas de inflorescencia	0.08	3
	Hortalizas de fruta	0.08	3
Productos lácteos	Crema	0.02	2
	Leche	0.02	2
	Queso	0.02	2
	Yogur	0.02	2
Pescados y mariscos	Atún	0.05	3
	Camarón	0.05	3
	Mariscos de concha	0.05	3
	Pescado	0.05	3

Integrando los cuatro criterios en el ADCM se obtuvo que el pollo, puerco y res fueron los alimentos más riesgos, seguidos de algunas frutas como de semillas, tropicales y secas (Figura 21). Este es el primer estudio realizado en México que prioriza alimentos asociados con *S. enterica* de acuerdo con su riesgo potencial, por lo cual es importante tomar los resultados con cautela principalmente por la falta de información. Sin embargo, otros países ya han realizado priorizaciones entre la combinación de patógenos incluyendo *S. enterica* y alimentos (Anderson, Jaykus, Beaulieu, & Dennis, 2011; Batz, Hoffmann, & Morris, 2012; EFSA, 2013; Ruzante *et al.*, 2010).



**Figura 21.** Puntaje final de la priorización de los alimentos asociados a *S. enterica*.

En un estudio conducido en Estados Unidos, se encontró que los alimentos con mayor riesgo asociados a *S. enterica* fueron las aves, seguido de alimentos complejos, productos hortofrutícolas, huevos, res, puerco, productos lácteos y mariscos (Batz *et al.*, 2012). La diferencia primordial entre el estudio de Batz y este trabajo es que las frutas y hortalizas fueron posicionadas por encima que la carne de res y puerco; sin embargo, esto puede estar relacionado con que conjuntaron todos los grupos hortofrutícolas en uno solo, y en este estudio las frutas y hortalizas se dividieron en nueve grupos.

En cuestión de los productos hortofrutícolas, la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA por sus siglas en inglés) en el caso de *S. enterica* priorizó en primer lugar a las hortalizas de hoja; en la segunda posición ubicaron a las hortalizas de tallo y bulbo, jitomates y melones; en tercera posición los germinados; en la cuarta posición las frambuesas, hierbas secas y hortalizas de hoja mezclada con otros productos de no origen animal; y en la quinta posición las

nueces y sus productos (EFSA, 2013). De los resultados más contrastantes entre la priorización de la EFSA y este estudio es que en la priorización de *S. enterica* en México encontramos que las frutas de semilla, frutas tropicales y frutas secas estuvieron por encima de las hortalizas de hoja, mientras que las hortalizas de tallo, raíz y tubérculos se encuentran en una posición menor que las frutillas y frutas secas. Estas diferencias pueden atribuirse en primer lugar a que se usaron diferentes criterios para la priorización, la EFSA empleó la incidencia de enfermedad, la carga de enfermedad, la relación dosis-respuesta, el consumo, los brotes y el potencial de crecimiento de patógenos durante la vida útil. En segundo lugar, la información de los brotes está más detallada, mientras que en este estudio fue el mismo valor para todas las frutas y hortalizas. Por último, otro factor importante a tomar en cuenta es el consumo, ya que en Europa los jitomates, las hortalizas de hoja, y las hortalizas de tallo y bulbo son los productos más consumidos, mientras que en México encontramos que son las frutas cítricas, de semillas y tropicales.

En Estados Unidos, Anderson *et al.* (2011) realizaron una priorización de la combinación de *S. enterica* y productos hortofrutícolas, en la cual emplearon ocho criterios (información epidemiológica, multiplicador de enfermedades, tasas de hospitalización y mortalidad, población susceptible, brotes, infectividad relativa, consumo, vida útil/potencial de crecimiento), quedando la combinación con jitomates en primera posición, seguido por las hortalizas de hoja y melones, y después con zanahorias. La diferencia de la priorización de Anderson, respecto a la de este estudio, se puede atribuir principalmente a la falta de información respecto a los brotes. Las ventajas de este estudio sobre el de Anderson es que, para evaluar la probabilidad de la exposición, no solo empleamos la prevalencia si no también los hábitos de manipulación y consumo, además de que evaluamos de manera cuantitativa el potencial de desarrollo de la bacteria. Finalmente, a pesar de las limitaciones del ADCM dadas principalmente por la falta de información epidemiológica y el bajo o nulo número de estudios de la prevalencia de *S. enterica* en algunos alimentos, esta priorización incluye las prácticas de manipulación y los patrones de consumo de alimentos de la población objetivo.

### 7.3 Prevalencia y concentración de *S. enterica* en alimentos seleccionados

Tomando en cuenta los resultados de la priorización de los alimentos asociados a *S. enterica* se seleccionó la carne de pollo, las frutas tropicales y las hortalizas de frutas como los alimentos a analizar en este trabajo. Específicamente para las frutas tropicales y hortalizas de fruta se eligió un producto representativo de este grupo realizando un ADCM interno tomando en cuenta el consumo *per cápita* en México, las toneladas que se exportan y su asociación en brotes en Estados Unidos por la exportación del producto. El mango y el jitomate fueron los alimentos elegidos como representativos de estos dos grupos. Un total de 272 muestras de jitomate Saladette, 300 de mango Ataulfo y 354 de pollo crudo fueron analizadas en este estudio. La prevalencia total en estos productos en el centro de México fueron 1.1 %, 1.3 % y 24.9 % para jitomate, mango y pollo, respectivamente. En la Tabla 38 se observa la prevalencia de *S. enterica* por producto, región y temporada de muestreo. El mango solo fue muestreado en temporada de calor ya que es una fruta de temporal.

**Tabla 38.** Prevalencia de *S. enterica* en mango, jitomate y pollo crudo en la región centro de México.

Tipo de muestra	Lugar de muestreo	% Prevalencia (Muestras positivas /Muestras totales)		
		Época de calor	Época de frío	Total
Mango	Aguascalientes	1.7 (1/60)	ND	1.7 (1/60)
	Jalisco	0.0 (0/120)	ND	0.0 (0/120)
	Querétaro	2.5 (3/120)	ND	2.5 (3/120)
	Total	1.3 (4/300)	ND	1.3 (4/300)
Tomate	Aguascalientes	2.0 (1/50)	ND	2.0 (1/50)
	Jalisco	0.0 (0/50)	0.0 (0/50)	0.0 (0/100)
	Querétaro	1.6 (1/61)	1.6 (1/61)	1.6 (2/122)
	Total	1.2 (2/161)	0.6 (1/161)	1.1 (3/272)
Pollo crudo	Aguascalientes	40.0 (20/50)	ND	40.0 (20/50)
	Jalisco	42.0 (21/50)	28.0 (14/50)	35.0 (35/100)
	Querétaro	16.7 (17/102)	15.7 (16/102)	16.2 (33/204)
	Total	29.7 (60/202)	17.8 (36/202)	24.9 (88/354)

NR = no realizado

En México se ha observado una prevalencia de *S. enterica* en jitomate que va desde el 0 % hasta el 11.7 % (Cárdenas *et al.*, 2013; Leal-Cervantes *et al.*, 2018), siendo mayor en jitomate Cherry que en Saladette o Bola. En el caso de mango, no existen estudios de prevalencia de este patógeno en puntos de venta. Ragazzo-Sanchez *et al.* (2009) evaluaron la prevalencia de este microorganismo dentro de una planta empacadora de mango, y encontraron una prevalencia del 6.7 %. Como se esperaba la prevalencia de *S. enterica* en pollo fue mucho mayor que, en los productos hortofrutícolas, mientras que la prevalencia de jitomate y mango fueron muy similares. En otros estudios se ha observado que la prevalencia de este patógeno en pollo en nuestro país varía desde 4.5 hasta 63.2 % (Charles-Hernández *et al.*, 2007; Miranda *et al.*, 2009; Rodríguez-Ceniceros *et al.*, 2016; Villalpando-Guzmán *et al.*, 2017a; Zaidi *et al.*, 2006).

La prevalencia de *S. enterica* en pollo tuvo una asociación estadística con el lugar de muestreo, siendo la prevalencia en Jalisco hasta dos veces más que la de Querétaro (Tabla 39) ( $p = 0.0002$ ). En contraste, la temporada de muestreo y el tipo de establecimiento minorista no tuvieron asociación estadística ( $p > 0.05$ ) con la prevalencia de *S. enterica*. Cuando los resultados se analizaron por lugar de muestreo, se observó que el tipo de establecimiento sí tuvo un efecto significativo sobre la prevalencia de *S. enterica*, siendo mayor en pollerías, seguido de los mercados y supermercados en Jalisco ( $p = 0.0294$ ); mientras que en Querétaro se observó una tendencia opuesta (supermercados > mercados > pollería,  $p = 0.0181$ ). En Querétaro ya se ha observado esta tendencia previamente (Regalado-Pineda *et al.*, 2020). En los supermercados, prácticas como el re-empaqueamiento o el tiempo prolongado de almacenamiento de este tipo de productos puede contribuir a la sobrevivencia y diseminación del patógeno. Por otro lado, al igual que en Jalisco, estudios realizados en Hidalgo y en la Ciudad de México encontraron que la prevalencia de *S. enterica* ha sido mayor en mercados y pollerías (Miranda *et al.*, 2009; Villalpando-Guzmán *et al.*, 2017a).

**Tabla 39.** Prevalencia de *S. enterica* en muestras de mango, tomate y pollo crudo compradas en establecimientos minoristas de la región central de México, según el lugar de muestreo, la temporada y el tipo de establecimiento.

Tipo de muestra	Lugar de muestreo	% Prevalencia (muestras positivas/ muestras totales)								
		Temporada de calor				Temporada de frío				
		Supermercado	Mercado	Pollería	Total	Supermercado	Mercado	Pollería	Total	Total
Mango	Jalisco	0.0 (0/35)	0.0 (0/40)	0.0 (0/45)	0.0 (0/120)	ND	ND	ND	ND	0.0 (0//120)
	Querétaro	5.0 (2/40)	2.5 (1/40)	0.0 (0/40)	2.5 (3/120)	ND	ND	ND	ND	2.5 (3/120)
	Total	2.6 (2/75)	1.3 (1/80)	0.0 (0/85)	1.3 (3/240)	ND	ND	ND	ND	1.3 (3/240)
Tomato	Jalisco	0.0 (0/17)	0.0 (0/17)	0.0 (0/16)	0.0 (0/50)	0.0 (0/17)	0.0 (0/17)	0.0 (0/16)	0.0 (0/50)	0.0 (0/100)
	Querétaro	7.1 (1/14)	0.0 (0/24)	0.0 (0/23)	1.6 (1/61)	0.0 (0/23)	0.0 (0/17)	4.8 (1/21)	1.6 (1/61)	1.6 (2/122)
	Total	3.2 (1/31)	0.0 (0/41)	0.0 (0/39)	0.9 (1/111)	0.0 (0/40)	0.0 (0/34)	2.7 (1/37)	0.9 (1/111)	0.9 (2/222)
Pollo crudo	Jalisco	29.4 (5/17)	35.3 (6/17)	62.5 (10/16)	42.0 (21/50)	17.6 (3/17)	23.5 (4/17)	50.0 (7/16)	28.0 (14/50)	35.0 (35/100)
	Querétaro	20.6 (7/34)	8.8 (3/34)	20.6 (7/34)	16.7 (17/102)	32.4 (11/34)	14.7 (5/34)	0.0 (0/34)	15.7 (16/102)	16.2 (33/204)
	Total	23.5 (12/51)	17.6 (9/51)	34.0 (17/50)	25.0 (38/152)	27.5 (14/51)	17.6 (9/51)	14.0 (7/50)	19.7 (30/152)	22.4 (68/304)

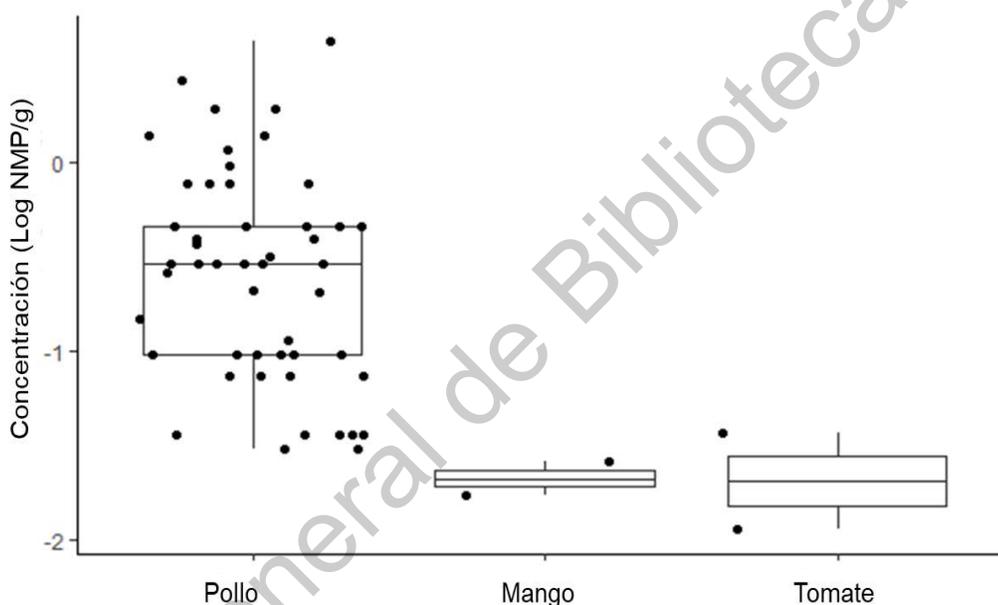
ND: No determinado

La concentración de *S. enterica* en alimentos ha sido poco estudiada en nuestro país, únicamente se tiene información publicada de la concentración del patógeno en chorizo y carne de res (Escartin, Castillo, & Salda, 1999; Martínez-Chávez *et al.*, 2015). En este estudio dos, tres y 68 muestras positivas a *S. enterica* de jitomate, mango y pollo, respectivamente, fueron cuantificadas (Figura 22). En una muestra de mango y 12 muestras de pollo la concentración del patógeno se encontró debajo del límite de detección (-2.00 Log NMP/g para jitomate y mango, y aproximadamente -1.52 Log NMP/g para pollo). Mientras que en siete muestras de pollo la concentración estuvo por encima del límite superior de detección (0.64 Log NMP/g).

La concentración del patógeno en las muestras de jitomate osciló entre -1.95 y -1.43 Log NMP/g, entre <-2.0 y -1.59 Log NMP/g en las muestras de mango, y entre <-1.52 y >0.64 Log NMP/g en las muestras de pollo. La concentración de *S. enterica* observada en los productos hortofrutícolas fue más baja que la informada en otros países, incluidos Malasia, China y Filipinas. Los estudios de esos países mostraron que la concentración de *S. enterica* en tomates osciló entre -0.5 y >2.3 Log NMP/g (Nillian *et al.*, 2011; Vital, Dimasuay, Widmer, & Rivera, 2014; Yang *et al.*, 2020). En mangos, Pui *et al.* (2011) encontraron 0.5 Log NMP/g, sin embargo, las muestras consistieron en el producto cortado, lo cual puede aumentar la contaminación cruzada y el crecimiento bacteriano debido a la disponibilidad de nutrientes.

La concentración media de *S. enterica* en pollos fue de -0.61 Log NMP/g, mientras que la mediana (IC del 95%) fue de -0.54 (-1.52 a 0.59). No se observó un efecto significativo ( $p > 0.05$ ) del lugar del muestreo, de la temporada de muestreo ni del tipo de establecimiento minorista sobre la prevalencia de *S. enterica* en pollo, ni tampoco de las interacciones entre estos factores. Se observó una variabilidad considerable en la concentración entre las muestras de pollo. Esto podría estar relacionado con el tamaño de la empresa de suministro, las prácticas de manipulación de alimentos de los trabajadores, y el tiempo de exposición del producto en los establecimientos minoristas. Ya que, por un lado, la vida de anaquel del pollo se alcanza con mayor frecuencia en los supermercados, mientras que en

mercados y pollerías el pollo fresco se suministra diariamente, y, por otro lado, los productos se almacenan principalmente a temperatura ambiente en los mercados y pollerías, lo que permite el crecimiento de *S. enterica*. La concentración de *S. enterica* en el pollo crudo ha sido ampliamente documentada, oscilando entre  $<-2.8$  y  $2.9$  Log NMP/g (Kanki *et al.*, 2009; Shashidhar, Srivastava, & Bandekar, 2011; Straver *et al.*, 2007; Wang *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2014; Zhu *et al.*, 2014). Sin embargo, estos datos son de otros países y no hay datos disponibles en México para comparar.



**Figura 22.** Concentración de *S. enterica* en jitomate, mango y pollo.

#### 7.4 Caracterización de la huella genotípica y fenotípica de las cepas de *S. enterica* aisladas de alimentos

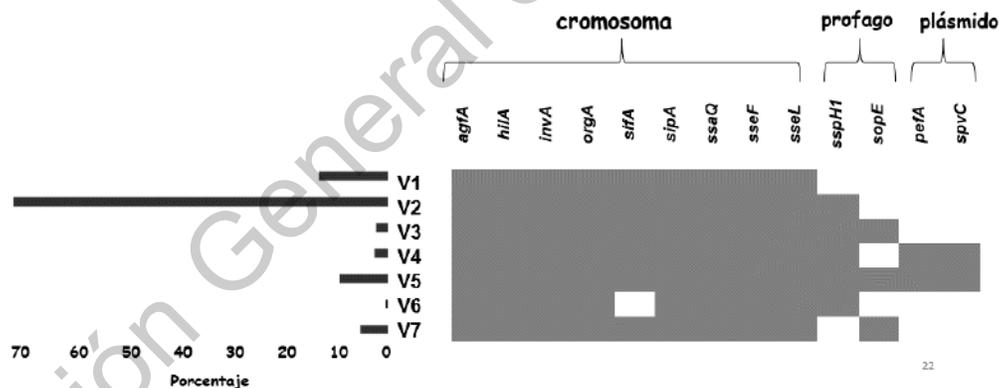
Se aislaron 284 cepas de *S. enterica* de los diferentes alimentos (13 de jitomate, 15 de mango y 256 de pollo). Todas estas cepas fueron caracterizadas de acuerdo con la HG y HF.

#### 7.4.1 Caracterización de la huella genotípica de las cepas de *S. enterica* aisladas de alimentos

El 99.6% (283/284) de los aislamientos contenían todos los genes cromosomales de virulencia analizados (*agfA*, *hilA*, *orgA*, *sipA*, *sifA*, *sseF*, *sseL*, *invA* y *ssaQ*); solo un aislado (0.4%) no tuvo el gen *sifA* y correspondió a una cepa obtenida de una muestra de mango en Aguascalientes. Otros estudios han encontrado resultados similares en el caso de los genes de virulencia cromosomales (Ahmed *et al.*, 2016; Bhowmick *et al.*, 2011; Deekshit, Kumar, Rai, Rohit, & Karunasagar, 2013; Elemfareji & Thong, 2013; Graziani *et al.*, 2011; Huehn *et al.*, 2010; Hughes *et al.*, 2008; Hur, Kim, Park, Lee, & Lee, 2011; Krzyzanowski *et al.*, 2014; Kuang *et al.*, 2015; Osman, Marouf, & Alatteehy, 2013; Skyberg *et al.*, 2006; Smith *et al.*, 2010), lo que sugiere que estos genes se encuentran preservados entre las cepas de esta especie. En el caso del gen *sifA* Khoo *et al.* (2009) también reportaron la falta de este gen en algunas cepas aisladas de vegetales y carne de pollo (2 %). La mayor variabilidad de los genes de virulencia se observó en los genes móviles, donde el 81.4% (234/284) y el 15.8% (45/284) de las cepas tenían los genes profago *sspH1* y/o *sopE*, respectivamente. Los genes del plásmido *pefA* y *spvC* se encontraron entre el 11.3% (32/284) de los aislados. Otros estudios observaron variabilidad en la presencia de estos genes plasmídicos que va de 0 al 98.9 % (Bhatta *et al.*, 2007; Bugarel, Granier, Weill, Fach, & Brisabois, 2011; Chiu & Ou, 1996; Huehn *et al.*, 2010; Hughes *et al.*, 2008; Hur *et al.*, 2011; Kuang *et al.*, 2015; Pasmans *et al.*, 2005; Skyberg *et al.*, 2006; Smith *et al.*, 2010).

La proteína codificada por el gen *sspH1* (SspH1) ha sido relacionada con la inhibición de NFκB (factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas), un regulador clave en la respuesta inmune innata como adaptativa, por lo cual antagoniza la respuesta celular inmune y prolonga la sobrevivencia intracelular de la bacteria (Agbor & McCormick, 2011; Haraga & Miller, 2006; McGhie *et al.*, 2009). SpvC se ha asociado con la sobrevivencia del microorganismo dentro de macrófagos, lo cual podría incrementar la duración y severidad de la enfermedad (Figuroa Ochoa & Verdugo Rodríguez, 2005; Kaur & Jain, 2012; Liss *et al.*, 2017; McGhie *et al.*, 2009).

Las 284 cepas de *S. enterica* se agruparon en siete virulotipos denominados V1, V2, V3, V4, V5, V6 y V7 (Figura 23), y el virulotipo V2 fue el más común entre los aislamientos (68.7 %). Los aislados de *Salmonella* de pollo mostraron una alta variabilidad de virulotipos, encontrando todos los virulotipos excepto V6. Los virulotipos V1, V2 y V3 se encontraron en muestras recolectadas de todas las ubicaciones de muestreo, mientras que V4, V5 y V7 solo se observaron en algunas ubicaciones. V4 se aisló de una muestra de pollo comprada en Querétaro, V5 en muestras de pollo de Querétaro y Aguascalientes y V7 en muestras de pollo de Jalisco. En cepas de *Salmonella* aisladas de jitomate, solo se observó el virulotipo V2, mientras que V2, V5 y V6 se detectaron en los aislados de mango. En muestras de mango y pollo, se identificó la coexistencia de aislamientos de *S. enterica* con diferentes virulotipos. Se detectaron virulotipos V2 y V5 en una muestra de mango, mientras que 12 muestras de pollo mostraron coocurrencia de múltiples virulotipos [V1/V2: 0.99 % (3/304); V1/V7: 0.99 % (3/304); V2/V3: 0.33 % (1/304); V2/V4: 0.33 % (1/304); V2/V5: 0.33 % (1/304); V2/V7: 0.33 % (1/304); V3/V5: 0.33 % (1/304); y V1/V2/V5: 0.33 % (1/304)].



**Figura 23.** Distribución de las cepas de *S. enterica* de acuerdo con su virulotipo.

En la Tabla 40 se muestra la prevalencia de los virulotipos de *S. enterica* en cada uno de los tres alimentos analizados. A pesar de la baja frecuencia del virulotipo V5 en estos alimentos, es importante no subestimar a estas cepas, ya que contienen todos los genes de virulencia que se buscaron en este estudio, por lo cual

estas cepas podrían ser hipervirulentas y ocasionar más cuadros de enfermedad que aquellas que pertenecen a los otros virulotipos.

**Tabla 40.** Prevalencia de los virulotipos de *S. enterica* en mango, jitomate y pollo.

Virulotipo	Prevalencia (%)		
	Mango n=300	Jitomate n=272	Pollo crudo n=354
V1	0.0	0.0	5.1
V2	1.0	1.1	18.1
V3	0.0	0.0	1.1
V4	0.0	0.0	0.3
V5	0.0	0.0	2.0
V6	0.3	0.0	0.0
V7	0.0	0.0	2.0

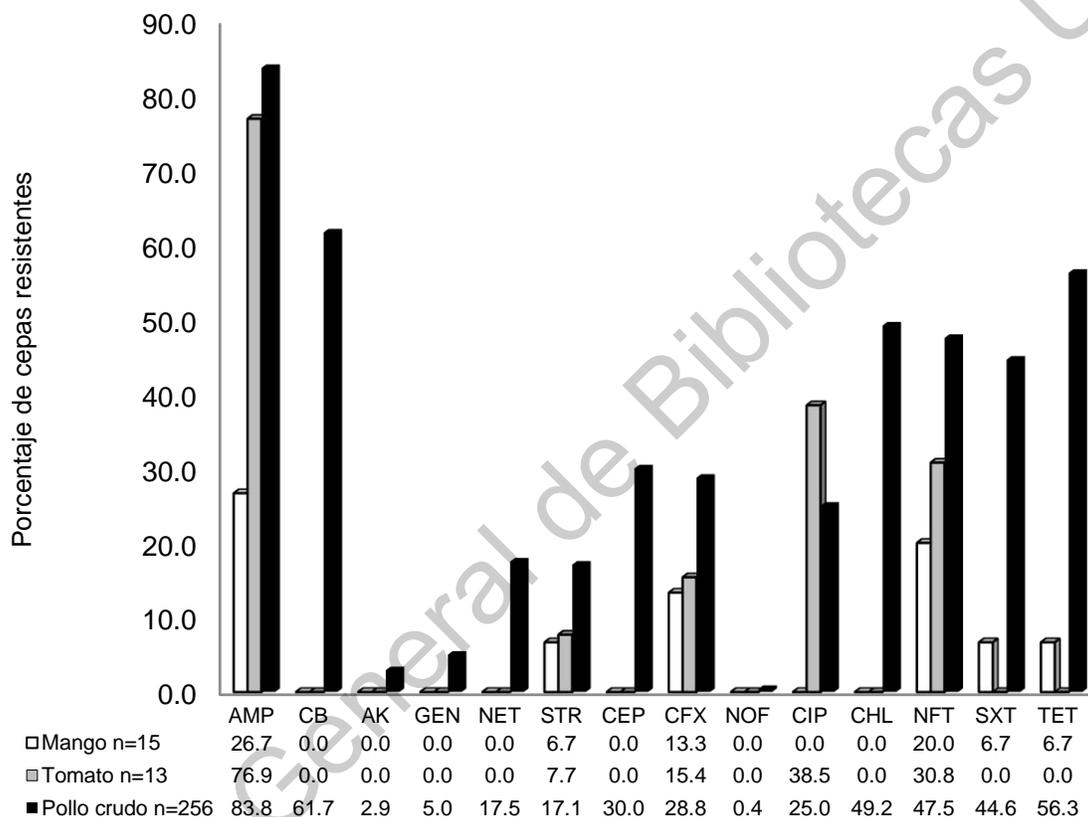
#### 7.4.2 Caracterización de la huella fenotípica de las cepas de *S. enterica* aisladas de alimentos

En el caso de la HF se evaluó la resistencia a antimicrobianos, la capacidad de desarrollo en condiciones ácidas y la formación de biopelículas.

##### 7.4.2.1 Resistencia a antimicrobianos

La presencia de microorganismos resistentes a antibióticos ha sido prioridad a nivel mundial por su gran riesgo a la salud (WHO, 2014). En este estudio se evaluó la resistencia de *S. enterica* a 14 antimicrobianos, así como sus posibles implicaciones en la caracterización del peligro. En la Figura 24 se muestra el porcentaje de cepas de *S. enterica* que son resistentes a los diversos antibióticos. El 91.5 % (260/284) de las cepas fueron resistentes a al menos un antimicrobiano. En general, la mayoría de las cepas fue resistente a ampicilina. Además de este antibiótico un alto porcentaje de cepas mostró resistencia a carbencilina, tetraciclina, nitrofurantoina, cloranfenicol y trimetoprima/sulfametoxazol. La alta resistencia a ampicilina, tetraciclina, trimetoprima/sulfametoxazol y cloranfenicol también se ha observado en otros estudios realizados con aislados de *S. enterica*

de pollo, res y personas enfermas y asintomáticas en México (Aguilar-Montes DeOca *et al.*, 2017; Cabrera-Diaz *et al.*, 2013; Martínez-Chávez *et al.*, 2015; Miranda *et al.*, 2009; Nayarit-Ballesteros *et al.*, 2016; Perez-Montaña *et al.*, 2012; Talavera *et al.*, 2011; Villalpando-Guzmán *et al.*, 2017; Zaidi *et al.*, 2013, 2008, 2006).



**Figura 24.** Porcentaje de cepas de *S. enterica* resistentes a distintos antibióticos aisladas de mango, jitomate, y pollo. Amikacina (AK, 30 µg), ampicilina (AMP, 10 µg), carbencilina (CB, 100 µg), cefalotina (CEP, 30 µg), cefoxitina (CFX, 30 µg), ciprofloxacino (CIP, 30 µg), cloranfenicol (CHL, 30 µg), gentamicina (GEN, 10 µg), netilmicina (NET, 20 µg), nitrofurantoina (NFT, 300 µg), norfloxacina (NOF, 10 µg), trimetoprima/sulfametoxazol (SXT, 1.25/23.75 µg), estreptomicina (STR, 10 µg), tetraciclina (TET, 30 µg).

Diversos estudios de cepas de *S. enterica* MRA se ha asociado con un mayor tiempo de hospitalización e incremento en la mortalidad (Duong *et al.*, 2020; Parisi *et al.*, 2018). El 54.9 % (156/284) de las cepas fue MRA. En el caso particular de mango, jitomate y pollo el 6.7 % (1/15), 15.4 % (2/13) y 59.8% (153/256) de las cepas fueron MRA. La alta presencia de cepas MRA aisladas de pollo puede asociarse a que durante el crecimiento de las aves se les administran antimicrobianos ya sea como promotores de crecimiento o como medida preventiva (Doyle, 2015; Gebreyes *et al.*, 2017). De acuerdo a la norma oficial mexicana NOM-040-ZOO-1995 muchos de los antibióticos a los cuales las cepas de *S. enterica* mostraron resistencia, están autorizados para emplearse en la producción de animales para consumo como son estreptomicina, gentamicina, amikacina, tetraciclina, trimetoprima/sulfametoxazol, cloranfenicol, entre otros (DOF, 1997).

Los aislados que presentaron MRA se clasificaron en 65 perfiles diferentes; sólo el 2.6% (4/156) y el 9.6% (15/156) de ellos correspondieron a perfiles ASSuT y ACSSuT, respectivamente, y todos fueron recuperados de muestras de pollo. Estos dos fenotipos son considerados de alta importancia sanitaria ya que han causado un mayor número de enfermedades en comparación con otras cepas susceptibles (Lucarelli *et al.*, 2010; Michael & Schwarz, 2016).

A pesar que la mayoría de los casos de NTS son autolimitados y no se requieren tratamiento con antibióticos, estos se emplean en casos severos e invasivos de enfermedad o cuando se presentan en personas mayores, inmunocomprometidas o niños principalmente menores a un año (McDermott, Zhao, & Tate, 2018). El incremento de la tasa de resistencia a antibióticos ha sido un problema importante en los tratamiento invasivos de *S. enterica* (Chen, Wang, Su, & Chiu, 2013), ya que como se mencionó con anterioridad al no funcionar podrían incrementar la severidad de la enfermedad.

Antibióticos como las fluoroquinolonas (ciprofloxacino), azitromicina, trimetoprima/sulfametoxazol, ampicilina y amoxicilina tienden a ser empleados en pacientes susceptibles adultos, mientras que las cefalosporinas de tercera generación en infantes (Gut, Vasiljevic, Yeager, & Donkor, 2018; McDermott *et al.*, 2018; Wen, Best, & Nourse, 2017). En la Tabla 41 se muestra, la prevalencia de *S.*

*enterica* resistente a los seis antibióticos más comunes (AMP, CHL, STR, STX, TER, CIP), la cual oscila entre el 7.6% y el 21.8%. En Jalisco, la mayor prevalencia de *S. enterica* MRA se observó en muestras de pollo compradas en pollerías, mientras que en Querétaro de pollo comprado en supermercados.

**Tabla 41.** Prevalencia de *S. enterica* resistente a diferentes antibióticos en mango, jitomate y pollo.

Resistencia a antimicrobianos	Prevalencia (%)		
	Mango n=300	Tomato n=272	Pollo crudo n=354
AMP	0.7	1.1	21.8
CHL	0.0	0.0	13.3
STR	0.3	0.4	7.6
STX	0.3	0.0	13.0
TET	0.3	0.0	15.5
CIP	0.0	0.7	10.5
ASSuT	0.0	0.0	0.8
ACSSuT	0.0	0.0	3.4
MRA	0.3	0.4	18.9

#### 7.4.2.2 Evaluación del comportamiento de *S. enterica* a condiciones ácidas

*S. enterica* tiene la capacidad de responder y adaptarse a diversos tipos de estrés, lo cual podría modificar su comportamiento ante diversas situaciones (Horn & Bhunia, 2018; Humphrey, 2004). Sin embargo, no todas las cepas tienen la misma capacidad de responder ante diversas condiciones, lo que podría generar una variabilidad en sus respuestas ante condiciones adversas, por ejemplo, durante el desarrollo y/o sobrevivencia en alimentos ácidos. Por lo cual, es importante caracterizar esta variabilidad e incluirla en el desarrollo de modelos predictivos. La inclusión de la variabilidad intra-especie en modelos predictivos ayudaría a mejorar la evaluación de la exposición ante patógenos.

Para evaluar la variabilidad intra-especie durante el desarrollo a condiciones ácidas moderadas (pH 5) y severas (pH 4), se modelaron cinéticas de

desarrollo y se estimaron parámetros de desarrollo (TD y  $\mu$ ). Se evaluaron tres diferentes modelos para ajustar las cinéticas de desarrollo, siendo el propuesto por Baranyi y Roberts el elegido (Tabla 42).

**Tabla 42.** Bondad de los modelos de Baranyi y Roberts, Gompertz y Scale Free.

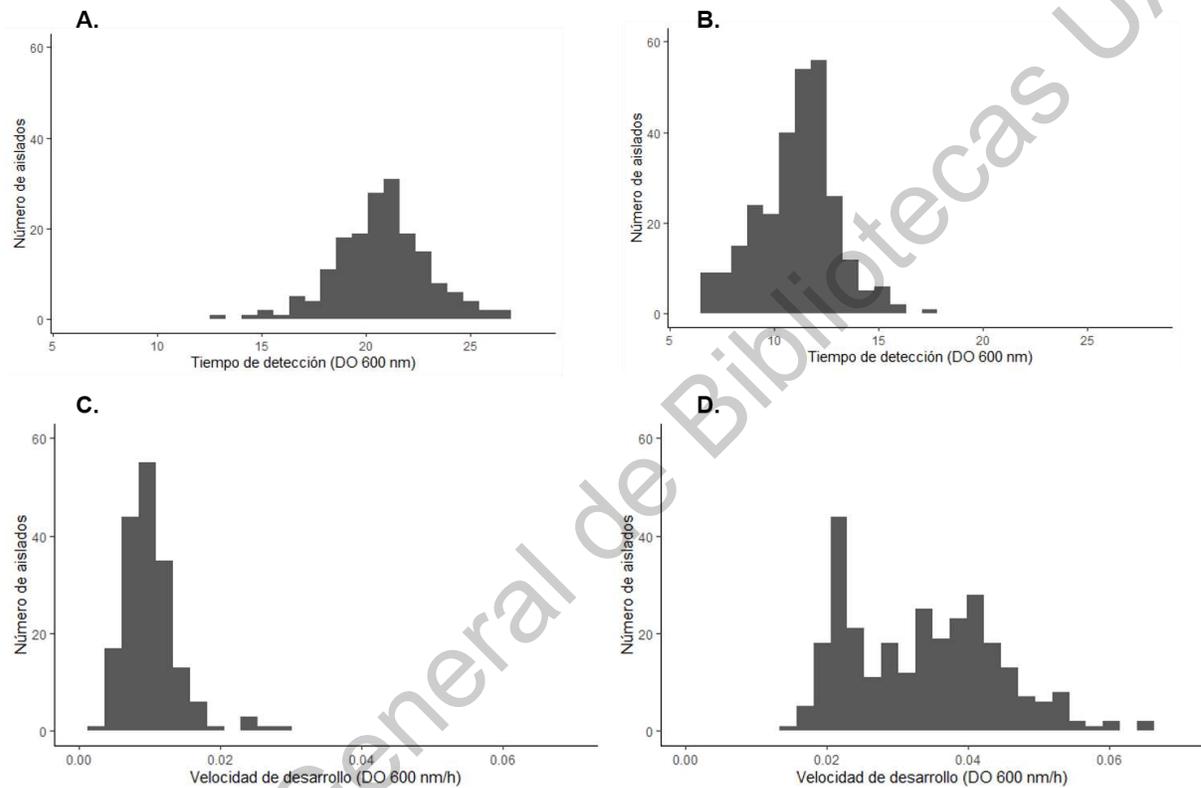
Condiciones	Modelo	R <sup>2</sup>	RMSE
pH 5	Baranyi y Roberts	0.89 a 0.99	0.0008 a 0.0971
	Gompertz	0.90 a 0.99	0.0017 a 0.0934
	Scale Free	0.78 a 0.99	0.0008 a 0.1086
pH 4	Baranyi y Roberts	0.82 a 0.99	0.0004 a 0.0107
	Gompertz	0.81 a 0.99	0.0002 a 0.0120
	Scale Free	0.57 a 0.99	0.0003 a 0.0176

En la Figura 25 se puede observar una amplia variabilidad entre los TD y las  $\mu$  de las cepas de *S. enterica* tanto a condiciones de acidez moderada como severa. El TD a pH 5 varió desde 6.14 a 17.34 h (Figura 25A), mientras que a pH 4 el TD fue mayor encontrándose en un rango de 13.21 a 26.33 h (Figura 25B). En el caso de la  $\mu$  los rangos variaron de 0.016 a 0.066 DO<sub>600nm</sub> h<sup>-1</sup>, y 0.003 a 0.028 DO<sub>600nm</sub> h<sup>-1</sup> para pH 5 y pH 4, respectivamente (Figura 25C, Figura 25D). Como era de esperarse el tiempo de detección es mayor y la velocidad es menor a pH 4 que a pH 5, ya que cuando el estrés es muy agresivo, la bacteria va modificando sus prioridades metabólicas y ante condiciones altamente estresantes su principal objetivo es sobrevivir, disminuyendo aquellos gastos energéticos relacionados con su desarrollo.

Las diferencias intra especie pueden estar asociadas a la historia previa de la célula (Bertranda, 2019), así como a su susceptibilidad ante metabolitos que genera durante su metabolismo, llegando a emplear la energía necesaria para el desarrollo en otras rutas metabólicas que le permitan mantener la homeostasis (Lianou, Nychas, & Koutsoumanis, 2017b).

Hasta ahora pocos estudios se han enfocado a evaluar la variabilidad intra especie de *S. enterica* durante el desarrollo en condiciones no óptimas (Fehlhaber & Krüger, 1998; Lianou & Koutsoumanis, 2011b, 2011a), enfocándose únicamente en la velocidad de desarrollo o el tiempo de generación.

En este estudio no se encontró relación entre el TD y la  $\mu$  a ninguna de las dos condiciones de pH, lo que indica que no necesariamente las cepas que se adaptan se multiplican con mayor rapidez. De la misma manera se observó que no existe relación entre el TD y la  $\mu$  a las dos condiciones de pH, es decir que no siempre las cepas que tienen una mejor adaptación o velocidad de desarrollo a pH 5 tienen el mismo comportamiento a pH 4.



**Figura 25.** Tiempo de detección (TD) y velocidad de desarrollo ( $\mu$ ) a pH 5 y pH 4 de cepas de *S. enterica*. A)  $TD_{pH4}$ , B)  $TD_{pH5}$ , C)  $\mu_{pH4}$ , D)  $\mu_{pH5}$

Estas diferencias pueden estar relacionadas con los diferentes mecanismos de defensa que implementa la bacteria ante condiciones ácidas moderadas y severas. Por ejemplo, ante condiciones de acidez moderada se activa principalmente el sistema de homeostasis de la célula; sin embargo, a pH más severo este sistema empieza a fallar, y a medida que desciende el pH se incrementa la producción de proteínas de choque ácido (Foster, 1995; Ramos-Morales, 2012).

Empleando las cepas de aisladas en Querétaro, se analizó la asociación entre TD y  $\mu$  en condiciones ácidas, y el virulotipo y MRA. MRA tuvo una asociación significativa ( $p < 0.05$ ) con  $\mu$  y TD a pH 4 y 5 (Tabla 43). En general, los aislamientos con MRA tuvieron una menor  $\mu$  y un mayor TD que los aislamientos no-MRA. El virulotipo también se asoció significativamente ( $p < 0.05$ ) con los parámetros de crecimiento, excepto con la  $\mu$  a pH 5; los aislados clasificados como virulotipo V5 (que contiene todos los genes de virulencia analizados en este estudio) mostraron un mayor TD y un una menor  $\mu$  o ningún crecimiento a pH 4. Estos resultados, al igual que otros estudios sugieren que la expresión de factores de virulencia de *S. enterica* puede tener un costo en la eficacia biológica disminuyendo su capacidad para desarrollar tanto fuera como dentro del huésped (Giraud, Cloeckert, Baucheron, Mouline, & Chaslus-Dancla, 2003; O'Regan *et al.*, 2010; Sturm *et al.*, 2011). En el caso específico de las cepas MRA es posible que su desarrollo se vea limitado en la presencia de otros microorganismos cuando existe una ausencia de antibióticos en el medio.

**Tabla 43.** Efecto del virulotipo y MRA de cepas de *S. enterica* en su desarrollo a condiciones ácidas.

Variable 1	Variable 2	Valor p
TD <sub>pH5</sub>	Virulotipo	<0.0001*
	MRA	0.0002*
TD <sub>pH4</sub>	Virulotipo	<0.0001*
	MRA	<0.0001*
$\mu$ <sub>pH5</sub>	Virulotipo	0.7763
	MRA	0.0019*
$\mu$ <sub>pH4</sub>	Virulotipo	<0.0001*
	MRA	<0.0001*

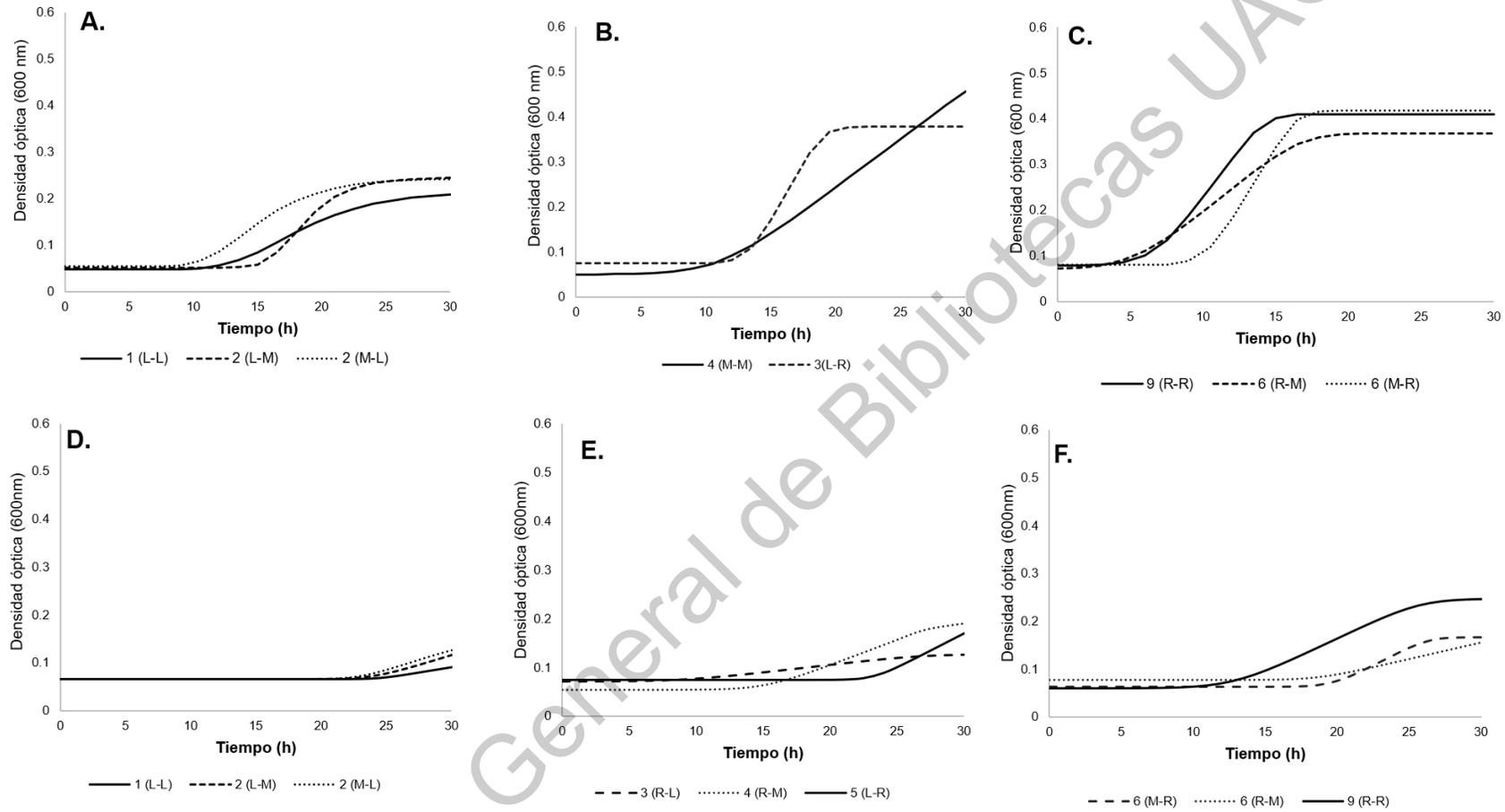
\*Diferencia estadísticamente significativa

Los valores empleados para clasificar las cepas en lentas (1), moderadas (2) y rápidas (3) para cada parámetro se determinó empleando las cepas de Querétaro (Tabla 44). A pH 5, aproximadamente el 70% de los aislamientos tuvieron un nivel moderado para ambos parámetros; a pH 4, aproximadamente el 50 % y el 78.4 % de los aislamientos tuvieron un nivel moderado en TD y  $\mu$ , respectivamente.

**Tabla 44.** Rangos del TD y  $\mu$  para clasificar las cepas en lentas, moderadas o rápidas, empleando las cepas aisladas en Querétaro y la frecuencia de los aislamientos de *S. enterica* en cada nivel.

Parámetro	Nivel	Rango	Frecuencia (%)
TD <sub>pH5</sub>	Lento (1)	> 12.89 h	12.1
	Moderado (2)	12.89 - 8.83 h	67.9
	Rápido (3)	< 8.83 h	20.0
TD <sub>pH4</sub>	Lento (1)	> 22.54 h	34.3
	Moderado (2)	22.54 - 18.83 h	50.8
	Rápido (3)	< 18.83 h	14.9
$\mu$ <sub>pH5</sub>	Lento (1)	< 0.0209 DO h <sup>-1</sup>	12.7
	Moderado (2)	0.0209 - 0.0414 DO h <sup>-1</sup>	70.3
	Rápido (3)	> 0.0414 DO h <sup>-1</sup>	12.0
$\mu$ <sub>pH4</sub>	Lento (1)	< 0.0066 DO h <sup>-1</sup>	12.7
	Moderado (2)	0.0066 - 0.0128 DO h <sup>-1</sup>	78.4
	Rápido (3)	> 0.0128 DO h <sup>-1</sup>	8.9

Usando la información mencionada anteriormente, los 284 aislados se clasificaron en una escala de desarrollo global para ambas condiciones de pH, mostrando distribuciones similares a pH 4 y 5 (Tabla 45). Un porcentaje relativamente bajo de aislamientos se agruparon en categorías más extremas: muy bajo (2.42 a 3.64 %) o muy alto (4.24 a 5.45 %), mientras que la mayoría de los aislamientos tuvieron un desarrollo moderado (47.27 a 49.10 %). Para validar la categorización propuesta, todos los aislamientos, incluidos los 199 de Aguascalientes y Jalisco, se recategorizaron utilizando una nueva media del TD y  $\mu$  obtenida con todos los datos. De todos los aislamientos, a pH 4 solo el 5.99 % (17/284) cambió de categoría; no se produjeron cambios para las categorías muy lentas y rápidas. Mientras que a pH 5, el 23.24 % (66/284) de los aislamientos cambiaron de clasificación. Lo que indica que los datos de TD y  $\mu$  de los aislados de Querétaro pueden ser representativos del crecimiento a pH 4 para otros aislados de *S. enterica*; sin embargo, para caracterizar el crecimiento a pH 5 es importante analizar más cepas para determinar adecuadamente los niveles de DT y  $\mu$ .



**Figura 26.** Cinéticas de desarrollo de diferentes cepas de *S. enterica* a condiciones ácidas.

A, B y C: cinéticas de desarrollo a pH 5; D, E, F: cinéticas de desarrollo a pH 4.

**Tabla 45.** Clasificación del desarrollo global de *S. enterica* en condiciones ácidas.

Escala global de desarrollo	Condición ácida	
	pH 4	pH 5
Sin desarrollo (0)	18.79 %	0.00 %
Muy lento (1)	3.64 %	2.42 %
Lento (2)	15.15 %	18.18 %
Moderado (3)	47.27 %	49.10 %
Alto (4)	10.91 %	24.85 %
Muy alto (5)	4.24 %	5.45 %

En un escenario hipotético, las cepas clasificadas como muy altas podrían crecer más rápidamente y, a pesar de estar en baja proporción, pueden ser dominantes en los alimentos ácidos, aumentando así el riesgo de salmonelosis. Por lo tanto, estos aislamientos se pueden utilizar para evaluar el “peor escenario”, en la evaluación de la exposición. Finalmente, en la Figura 26 se observan algunos ejemplos de las cinéticas de desarrollo de cepas de *S. enterica* con diferentes escalas de desarrollo, lo que evidencia el impacto que esta variabilidad representa, y resalta la importancia de incluir la variabilidad intra-especie en los modelos predictivos. Asimismo, es de gran importancia conocer la proporción de cepas que presentan dichas características y que están circulando en los alimentos que se venden en la región estudiada para evaluar la implicación que esto tiene en la inocuidad alimentaria.

#### 7.4.2.3 Formación de biopelículas de *S. enterica*

La habilidad de formar biopelículas en cepas de *S. enterica* puede tener un efecto importante en la persistencia de esta bacteria tanto dentro de la cadena de producción de alimentos como dentro del huésped (Lamas, Miranda, Vázquez, Cepeda, & Franco, 2016; Pui *et al.*, 2011; Vestby, Møretrø, Langsrud, Heir, & Nesse, 2009). La variabilidad intra-especie de *S. enterica* en los patrones de formación de biopelículas pueden tener un importante efecto en la persistencia, contaminación cruzada y transmisión del patógeno.

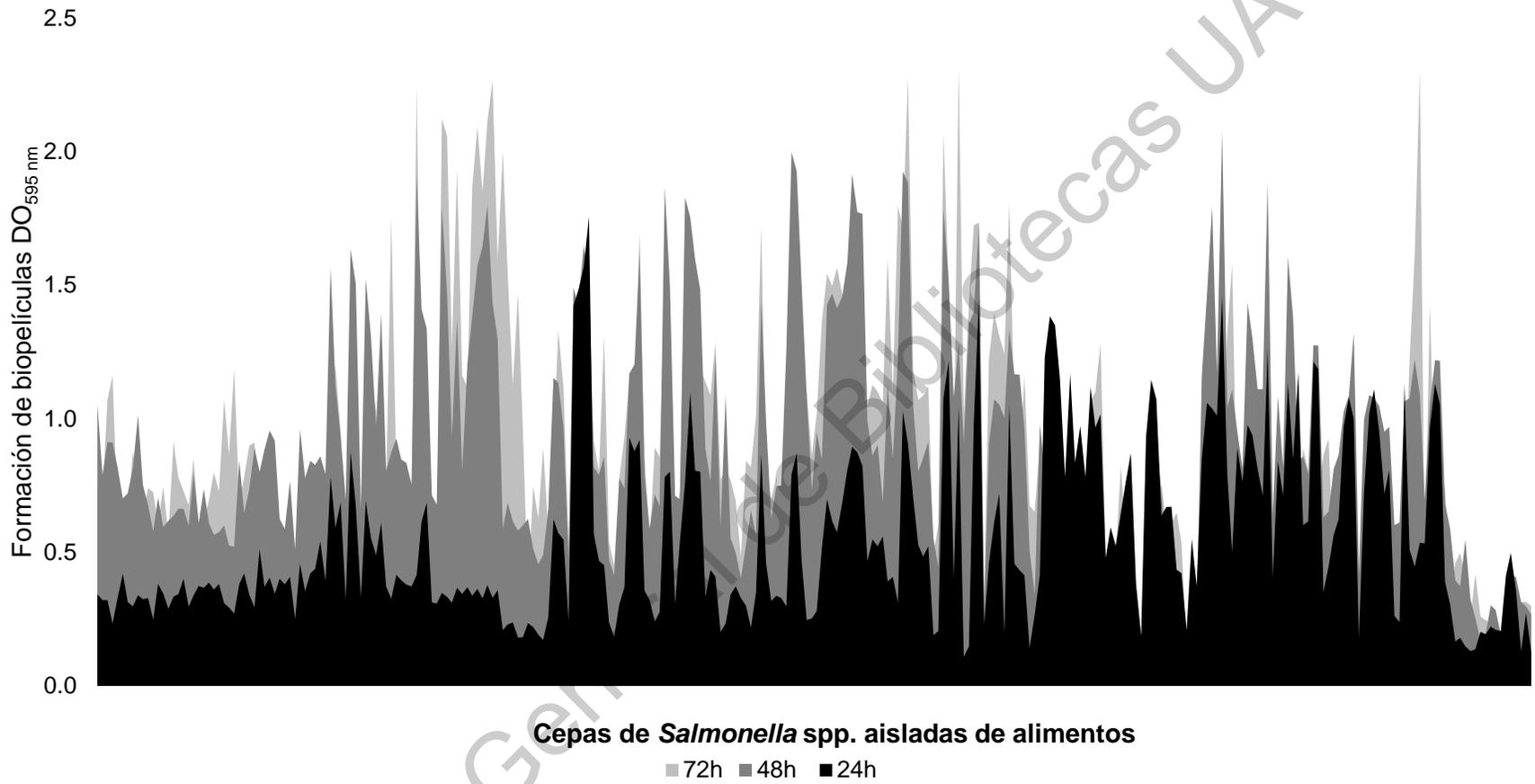


Figura 27. Formación de biopelículas de cepas de *S. enterica* a través del tiempo.

Diferentes estudios de la variabilidad en la formación de biopelículas de *S. enterica* se han realizado en India, España, Grecia, Estados Unidos, Serbia, Polonia, Italia y Brasil (Čabarkapa *et al.*, 2015; Díez-García, Capita, & Alonso-Calleja, 2012; Lianou & Koutsoumanis, 2012; Nair *et al.*, 2015; Piras, Fois, Consolati, Mazza, & Mazzette, 2015; S. Stepanović, Ćirković, Mijač, & Švabić-Vlahović, 2003; Stepanović, Ćirković, Ranin, & Švabić-Vlahović, 2004; Zadernowska & Chajęcka-Wierzchowska, 2017; Ziech *et al.*, 2016). Sin embargo, en México no hay estudios que evalúen la variabilidad entre las cepas de *S. enterica*, ya que los pocos estudios que existen se enfocan en una pequeña cantidad de cepas. En la Figura 27 se muestra la gran variabilidad de formación de biopelículas de los diferentes aislados de *S. enterica* a través del tiempo. El rango de la formación de biopelículas varió de 0.11 a 1.76 DO<sub>595nm</sub>, 0.14 a 2.08 OD<sub>595nm</sub>, and 0.13 a 2.31 OD<sub>595nm</sub> a las 24, 48, y 72 h, respectivamente.

La dinámica de la formación de biopelículas en la mayoría de los casos mostró un incremento en la producción de polímeros a través del tiempo; sin embargo, en algunos casos se observó una disminución en la formación de biopelículas a las 24 y 48 h. La formación de biopelículas no siempre es uniforme en tiempo y espacio (Jessen & Lammert, 2003). El comportamiento dinámico observado no solo puede estar relacionado con la producción de polímeros, sino también con la etapa de la formación de biopelículas en que se encuentre. Las etapas de la formación de biopelículas son: adhesión (reversible e irreversible), desarrollo de la arquitectura de la biopelícula y maduración en donde se observa un desarrollo de las células sésiles dentro de la biopelícula, y por último la dispersión (Kaplan, 2010; Srey, Jahid, & Ha, 2013). Sugiriendo que la disminución en la producción de biopolímeros pudiera asociarse con una llegada a la maduración de la biopelícula seguida por la dispersión de las células, ya que las células desprendidas pueden usar la matriz polimérica como fuente de carbono (Pui *et al.*, 2011). En este punto es importante aclarar que un aumento en la formación de biopelículas, o la estabilidad en la concentración de estos biopolímeros, no dicen que no se esté experimentando el proceso de dispersión. Durante el ciclo de la formación de biopelículas, en la etapa de maduración podría existir un intercambio

activo de células en la matriz polimérica, en el cual se formen polímeros, y al mismo tiempo una pérdida de estos debido a la dispersión pasiva o activa que puede estar ocurriendo (D'Acunto, Frunzo, Klapper, Mattei, & Stoodley, 2019).

No se observó correlación entre el desarrollo ( $DO_{600nm}$ ) y la formación de biopelículas ( $DO_{595nm}$ ) de las cepas de *S. enterica* a ningún tiempo de incubación (24 h,  $R^2 = 0.078$ ; 48 h,  $R^2 = 0.015$ ; 72 h,  $R^2 = 0.013$ ) ni en general ( $R^2 = 0.059$ ), lo que sugiere que no necesariamente las bacterias que tienen mayor capacidad de desarrollo son las que producen más biopelículas, o viceversa. Otros estudios también han observado que no existe una relación entre el desarrollo y la formación de biopelículas (Díez-García *et al.*, 2012; Lianou & Koutsoumanis, 2012).

Factores extrínsecos como la disponibilidad de nutrientes, pH, temperatura y tiempo de incubación juegan un papel importante en la formación de biopelículas (Lianou & Koutsoumanis, 2012; Stepanović *et al.*, 2004). En este estudio se observó que el tiempo de incubación tuvo un efecto importante sobre la formación de biopelículas, siendo de forma general mayor su producción a las 48 y 72 h que a las 24 h. El origen (fuente de aislamiento) de las cepas no tuvo un efecto significativo (Tabla 46), siendo similar a lo encontrado por Stepanović *et al.* (2004) al comparar la formación de biopelículas de cepas de *S. enterica* aisladas de alimentos, animales y humanos. Mientras que, en cuestión del periodo del año, las cepas aisladas en época de calor mostraron una mayor formación de biopelículas.

En el caso de los factores intrínsecos, el virulotipo y la MRA, tuvieron un efecto estadísticamente significativo ( $p < 0.05$ ) sobre la formación de biopelículas. En el caso del virulotipo, a pesar de esto, no se observó una tendencia clara sobre el número de genes de virulencia o la presencia de genes específicos. Nair *et al.* (2015) también encontraron una relación entre la formación de biopelículas y el agrupamiento de acuerdo con tres análisis genéticos (PFGE, ERIC-PCR, RAPD-PCR) de cepas de *S. enterica*, sin embargo, tampoco observaron tendencias claras.

Por otra parte, en la cuestión de la resistencia a antibióticos, las cepas MRA tuvieron una mayor producción de biopolímeros. Esto puede estar ligado con la historia previa de la célula, teniendo como hipótesis que las cepas antes del aislamiento se encontraban dentro de una matriz polimérica, ya que es bien sabido

que dentro de las biopelículas puede existir con mayor frecuencia un intercambio de genes, aunado a esto la mayoría de los casos de resistencia a antimicrobianos es obtenida a través de elementos genéticos móviles. No obstante Piras *et al.* (2015) y Wang *et al.* (2013) no encontraron una correlación entre la formación de biopelículas y la resistencia a antibióticos.

**Tabla 46.** Efecto del virulotipo, MRA, y tiempo de incubación sobre la habilidad de formación de biopelículas de cepas de *S. enterica*.

Factor	Valor p
Virulotipo	0.0008*
MRA	<0.0001*
Tiempo de incubación	<0.0001*

\*Diferencia estadísticamente significativa

Las cepas fueron clasificadas en función de su nula, débil, moderada y fuerte formación de biopelículas de acuerdo con las bases propuestas por Stepanovic *et al.* (2000), encontrando que a las 24 h la mayoría de las cepas tuvieron una formación débil y evolucionó a moderada, de tal forma que a medida que el tiempo transcurrió fue disminuyendo el número de cepas que se encontraban en los grupos de no formadores o débilmente formadoras, y fueron incrementando en los grupos de moderada y fuerte formación de biopelículas (Tabla 47). En la evaluación de riesgos, la formación de biopelículas puede tener implicaciones tanto en la etapa de la caracterización del peligro como en la evaluación de la exposición. En el caso de la caracterización del peligro, la formación de biopelículas podría incrementar la colonización y la replicación del patógeno dentro del huésped, incrementar la transmisión del patógeno intra e inter huésped (MacKenzie, Palmer, Köster, & White, 2017), así como proteger al patógeno contra la respuesta inmunológica del huésped y de la terapia antimicrobiana (Zadernowska & Chajęcka-Wierzchowska, 2017). Mientras que en el caso de la evaluación de la exposición, la formación de biopelículas puede tener un impacto importante en la contaminación cruzada y re contaminación de alimentos (Carrasco *et al.*, 2012; Shi & Zhu, 2009).

**Tabla 47.** Clasificación de cepas de *S. enterica* en función de la formación de biopelículas a través del tiempo.

Clasificación	Tiempo de incubación		
	No. cepas (%)		
	24 h	48 h	72 h
No productora	27 (9.51)	7 (2.46)	4 (1.41)
Productora débil	113 (39.79)	23 (8.10)	24 (8.45)
Productora moderada	85 (29.93)	109 (38.38)	130 (45.77)
Productora fuerte	59 (20.77)	145 (51.06)	126 (44.37)

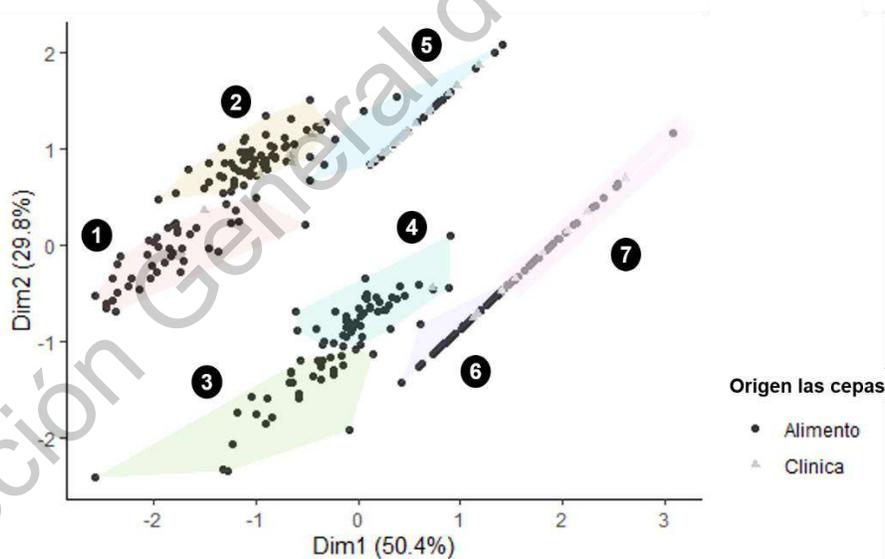
Por la importancia que tiene la habilidad de formar biopelículas en la persistencia de *Salmonella* en superficies, se decidió de integrar la formación de biopelículas a través del tiempo para obtener una clasificación de la persistencia que permita la selección de cepas. Se propusieron seis categorías: no persistente, persistencia muy baja, persistencia baja, persistencia moderada, persistencia alta y persistencia muy alta. La mayoría de las cepas se agruparon en la clasificación de persistencia moderada (29.9 %) y alta persistencia (29.9 %) (Tabla 48). La clasificación de persistencia de *Salmonella* propuesta en este estudio podría ayudar a seleccionar cepas para evaluar y modelar escenarios de contaminación cruzada y transferencia de células cuando éstas se encuentran dentro de una biopelícula.

**Tabla 48.** Clasificación de la persistencia de *S. enterica* de acuerdo con su formación de biopelículas a través del tiempo.

Persistencia	No. cepas (%)
No persistencia	3 (1.06)
Muy baja persistencia	20 (7.04)
Baja persistencia	79 (27.82)
Moderada persistencia	85 (29.93)
Alta persistencia	85 (29.93)
Muy alta persistencia	12 (4.23)

## 7.5 Integración de la huella genética y fenotípica de las cepas de *S. enterica* aisladas de los alimentos y de casos clínicos

En el análisis de factores múltiples se integraron los datos de la presencia o ausencia de cada uno de los genes de virulencia analizados, la MRA de las cepas, el TD y  $\mu$  a las dos condiciones de pH, así como la formación de biopelículas a los tres diferentes tiempos. La Figura 26 muestra la dimensión 1 (Dim-1) y 2 (Dim-2) del análisis de factores múltiples; estas dos dimensiones explican el 80.1 % de la varianza total (Dim-1 explica el 50.4 % y Dim-2 el 29.8 %). De acuerdo con el análisis, el comportamiento en condiciones ácidas (principalmente el DT) y el MRA son las características que impactan en la distribución de las cepas. En el caso de las variables cuantitativas,  $DT_{pH4}$  tiene una alta correlación (0.81) con Dim-1, mientras que  $DT_{pH5}$  con ambas dimensiones, Dim-1 (0.71) y Dim-2 (0.53), es decir, las cepas que tienen valores mayores valores en Dim-1 y Dim-2 tienen mayor TD, por lo que tienen menor capacidad de adaptación a condiciones ácidas.

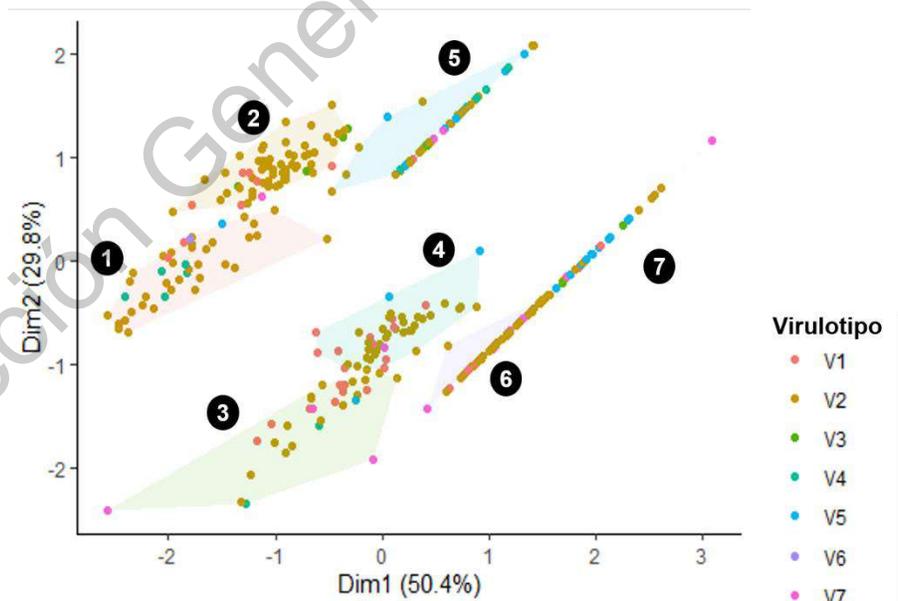


**Figura 28.** Agrupación de las cepas de *S. enterica* de acuerdo con el análisis de factores múltiples y análisis jerárquico. 1) grupo 1, 2) grupo 2, 3) grupo 3, 4) grupo 4, 5) grupo 5, 6) grupo 6, 7) grupo 7.

Se crearon siete grupos. En los grupos 1, 2 y 5 se localizan las cepas no-MRA y en los grupos 3, 4, 6 y 7 las cepas MRA. La mayoría de los aislamientos que

no pueden crecer a pH 4 durante 30 h se ubicaron en el grupo 5 (33.3 %), 6 (44.2 %) y 7 (21.0 %). En todos los grupos no-MRA se encontraron aislamientos de alimentos y de casos clínicos. El grupo 1 tiene una mejor adaptación a pH 5, mientras que el grupo 2 a pH 4. En el grupo 5 se ubican la mayoría de los aislamientos de casos clínicos (57.9 %). Las principales características de este clúster, además de ser aislados no-MRA, es que tuvieron una baja capacidad de adaptación o no crecieron a pH 4. A pesar de que la presencia de genes de virulencia no afectó la distribución de los aislamientos, en el grupo 5 se encuentran un alto porcentaje de cepas de V5 (35.7 %) y V4 (41.7 %).

De los grupos que incluyeron las cepas MRA, el grupo 3 se conformó solo por aislamientos de alimentos, mientras que el grupo 4 incluyó aquellas cepas que mostraron baja adaptación a condiciones ácidas (valores altos de DT), y los grupos 6 y 7 se conformaron principalmente por cepas de casos clínicos. Las cepas presentes en los grupos 6 y 7 tuvieron una mala adaptación a pH 4 ya que en la mayoría de los casos no desarrollaron; sin embargo, los aislamientos del grupo 6 presentaron una mejor adaptación a condiciones ácidas leves (pH 5) que los aislamientos del grupo 7 (Figura 29).



**Figura 29.** Distribución de los virulotipos en los diferentes grupos. 1) grupo 1, 2) grupo 2, 3) grupo 3, 4) grupo 4, 5) grupo 5, 6) grupo 6, 7) grupo 7.

La MRA es la característica que dividió completamente a los aislamientos en dos grandes grupos. A pesar de que la información genotípica es la base del comportamiento del patógeno, los resultados resaltan la importancia de la HF, la cual se ve influenciada por la historia de la célula. Por ejemplo, es posible que las cepas presentes en los grupos 6 y 7, debido a su MRA tengan un costo en la eficiencia biológica ante condiciones estresantes, ya que la mayoría de ellas no crecieron a pH 4. La resistencia a los antimicrobianos se ha asociado con una reducción en la eficiencia biológica de las bacterias debido a que tiene que mantener activos diversos mecanismos que le confieren resistencia (Guo, Abdelraouf, Ledesma, Nikolaou, & Tam, 2012).

Sin embargo, también se observó que cepas presentes en los grupos 3 y 4 son capaces de crecer a pH 4, lo que destaca que también algunas cepas pueden generar mecanismos para no comprometer por completo su crecimiento. Algunos estudios han demostrado que las bacterias resistentes a los antimicrobianos pueden restaurar su eficiencia biológica mediante la acumulación de mutaciones compensatorias (Giraud *et al.*, 2003; Zhang, Sahin, McDermott, & Payot, 2006). Dado lo anterior, de todos los conglomerados, se seleccionaron 39 y 18 aislamientos de alimentos y humanos para tener cepas representativas que estén circulando en México con diferentes características.

## **7.6 Efecto de la variabilidad intra-especie de cepas de *S. enterica* durante la simulación gástrica**

Recientemente un nuevo concepto denominado eventos claves del sistema dosis respuesta (KEDRF, key events dose response framework) se ha introducido con la finalidad de mejorar los modelos dosis respuesta, el cual consiste en describir las rutas de los eventos claves que ocurren entre la exposición inicial y el efecto final. Los elementos involucrados son: 1) nivel y frecuencia de la dosis, 2) interacción específica; 3) factores que pueden afectar la interacción (Buchanan, Havelaar, Smith, Whiting, & Julien, 2009; Lago *et al.*, 2017).

Los pasos para el KEDRF de NTS son: (i) sobrevivencia del patógeno en la parte superior del tracto digestivo, (ii) colonización en el intestino, (iii) penetración a través de las células epiteliales, células M o células dendríticas, y (iv) penetración y sobrevivencia dentro de los macrófagos. En cada paso diversos factores pueden influir en la respuesta final incluyendo la dosis, factores de virulencia del patógeno y mecanismos protectores del huésped; lo que hace indispensable entender como estos factores influyen en la probabilidad que pueda continuar el siguiente paso del KEDRF (Julien, Boobis, & Olin, 2009; Koseki, Mizuno, & Sotome, 2011).

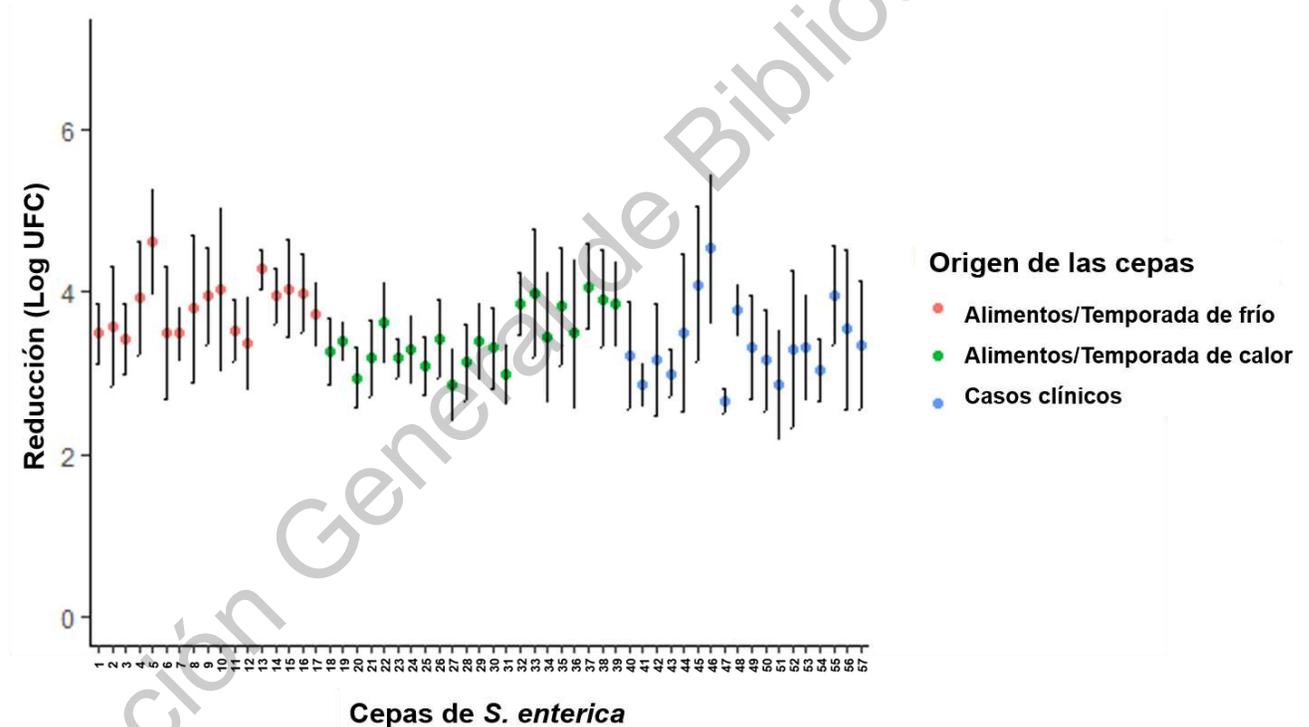
En el KEDRF propuesto en este estudio para NTS como en el propuesto por Buchanan *et al.* (2009) para listeriosis fetal, la sobrevivencia en la parte superior del tracto gastrointestinal (estómago) es el primer evento. La fase gástrica es la barrera principal contra microorganismos patógenos, dado su bajo pH (Smith, 2003). El número de patógenos que sobreviven en este paso está influenciado por diversos factores como: el tipo de matriz alimentaria, la composición y cantidad de la matriz alimentaria, la acidez del estómago (Koseki *et al.*, 2011), así como la variabilidad intra-especie.

Con la finalidad de evaluar el efecto que tiene la variabilidad intra-especie de *S. enterica* sobre su sobrevivencia en fluidos gástricos, se evaluaron las 39 cepas aisladas de alimentos y las 18 cepas de casos clínicos. La mayoría de los estudios que evalúan el comportamiento del patógeno utilizan una o muy pocas cepas con características desconocidas. En los últimos años, en ECRM ha destacado la importancia de incluir la variabilidad intra-especie para obtener estimaciones más realistas (Cocolin *et al.*, 2018; den Besten *et al.*, 2018; Haddad *et al.*, 2018).

En la Figura 30 se presentan las reducciones de las poblaciones de cepas aisladas de *S. enterica* de alimentos y humanos, observándose una enorme variabilidad que va desde 2.9 a 4.6 Log UFC y 2.7 a 4.7 Log UFC, respectivamente. Otros estudios han reportado mayores reducciones (4.0 a 6.3 Log UFC/mL) (pH 1.5 a 2.5; de 100 min a 180 min ); sin embargo, estos estudios se limitan al estudio de una o unas pocas cepas (Akbar & Anal, 2015; Aviles, Klotz, Smith, Williams, & Ponder, 2013b; Perez, Ceccon, Da Silva Malheiros, Jong, & Tondo, 2010). Además de la inclusión de más aislamientos, en este estudio se utilizó un modelo dinámico

en donde en la etapa del estómago se simula la secreción gástrica disminuyendo el pH gradualmente para realizar un escenario más realista.

El origen y el grupo tuvieron un efecto significativo en las reducciones del patógeno cuando se exponen a condiciones gástricas simuladas (Tabla 49). En general, los aislamientos de casos clínicos presentaron menores reducciones que los aislamientos de alimentos, mientras que los aislamientos del grupo 3 tuvieron las reducciones más altas. En el caso de *L. monocytogenes*, (Cunha *et al.*, 2016) no encontraron diferencia entre cepas de alimentos y aislados clínicos durante la simulación de las condiciones gástricas; en contraste, Ramalheira *et al.* (2010) sí lo hicieron.



**Figura 30.** Reducción de la población de cepas de *S. enterica* aisladas de alimentos y casos clínicos durante la simulación gástrica.

**Tabla 49.** Efecto del origen, virulotipos, MRA y los agrupamientos sobre la reducción de cepas de *S. enterica* durante la simulación gástrica.

<b>Factor</b>	<b>Valor p</b>
Origen	0.0077*
Virulotipo	0.5068
MRA	0.6927
Grupo	0.0007*

\*Estadísticamente significativo

Para los aislados de alimentos, la temporada de aislamiento también tuvo un efecto significativo ( $p < 0.0001$  \*), encontrando mayores reducciones en las cepas aisladas en temporada de frío que de calor. Los datos encontrados abren nuevas preguntas: ¿Por qué las cepas aisladas de alimentos en temporada de calor disminuyen más su población ante condiciones gástricas que las aisladas en temporada de frío?. En México como en otros países de Europa, Australia y Estados Unidos existe un incremento en los casos de salmonelosis en el verano, cuando la temperatura es mayor (CDC, 2016; Godínez-Oviedo, Tamplin *et al.*, 2019; Hall *et al.*, 2006; Kovats *et al.*, 2004; Zhang, Bi, & Hiller, 2010). El incremento de los casos de salmonelosis en temporada de calor, puede atribuirse principalmente a que dada las condiciones ambientales hay una mayor concentración del patógeno en los alimentos; sin embargo, es posible que las condiciones ambientales en épocas de calor modifiquen características fenotípicas del patógeno que le permiten sobrevivir más a las condiciones gástricas.

Dado lo anterior, es importante profundizar en la capacidad de infectar de cepas con distintas capacidades de sobrevivir a condiciones gástricas, con diferentes genes de virulencia y que sean MRA o no, ya que estas características pudieran afectar la caracterización del peligro. Para realizar estudios más profundos sobre la probabilidad de infectar, se realizó nuevamente una selección de cepas mediante un análisis AMF-AJ en el que se incluyó la información previa sobre la HG y HF y la información sobre las reducciones gástricas. Se seleccionaron 6 cepas que se clasificaron como de baja, moderada y alta virulencia de acuerdo con su HG (Tabla 50).

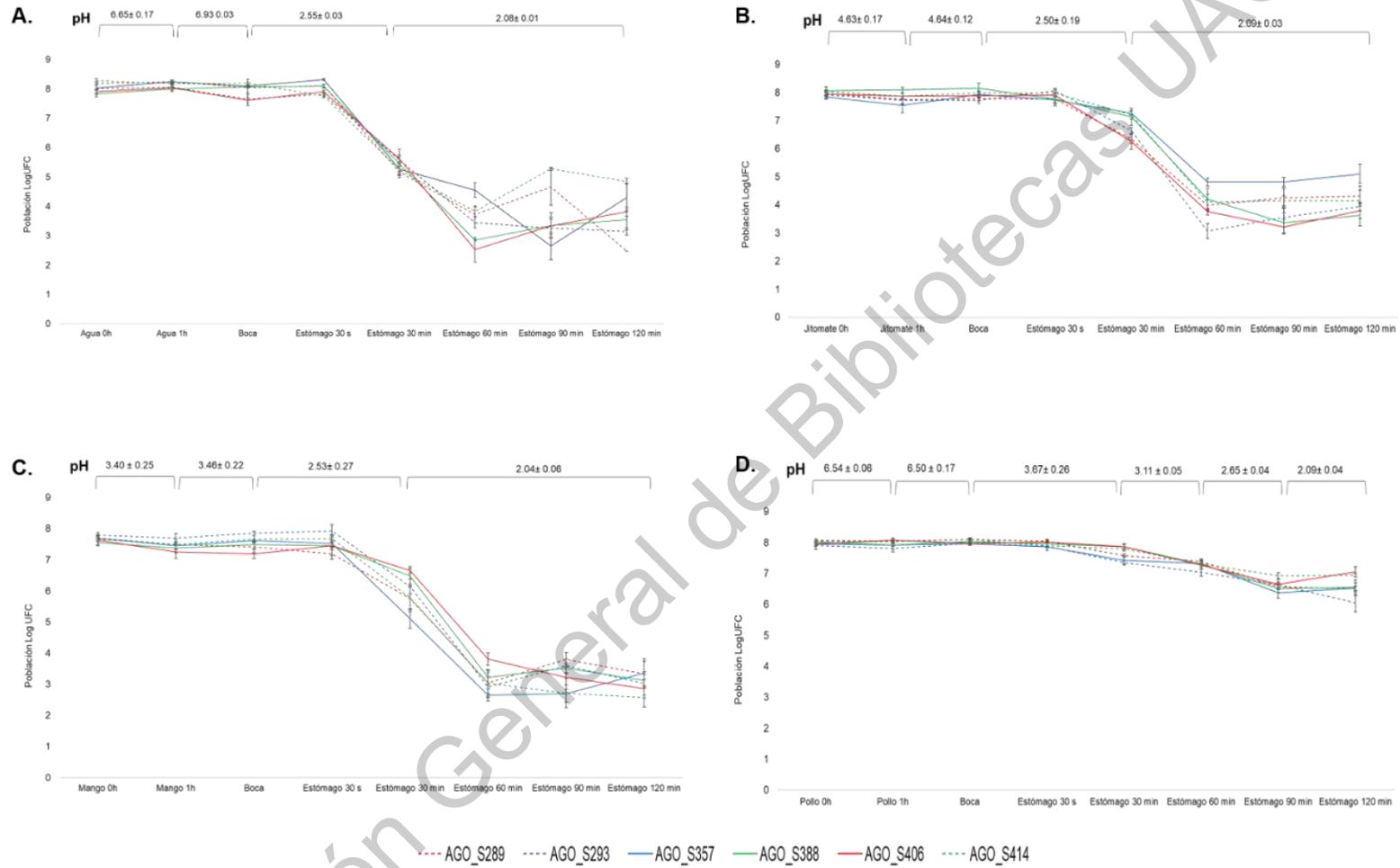
**Tabla 50.** Cepas de *S. enterica* seleccionadas.

Cepa	Virulencia	Virulotipo	MRA	Desarrollo a condiciones ácidas		Persistencia
				pH 4	pH 5	

AGO_S289	Moderada	V2	No	Desarrollo moderado	Desarrollo moderado	Muy baja persistencia
AGO_S293	Alta	V5	No	Sin desarrollo	Desarrollo moderado	Muy baja persistencia
AGO_S357	Alta	V5	Si	Sin desarrollo	Desarrollo muy lento	Muy baja persistencia
AGO_S388	Moderada	V2	Si	Desarrollo moderado	Desarrollo moderado	Muy alta persistencia
AGO_S406	Baja	V1	No	Desarrollo alto	Desarrollo moderado	Alta persistencia
AGO_S414	Baja	V1	Si	Desarrollo alto	Desarrollo lento	Moderada persistencia

## 7.7 Efecto de la matriz alimentaria sobre la sobrevivencia de *S. enterica* en condiciones gástricas

Como se mencionó anteriormente la matriz alimentaria juega un papel primordial en la sobrevivencia de los patógenos en la fase gástrica, ya que puede servir de protección para los microorganismos. Durante esta fase el pH cambia de manera constante, lo cual depende de la secreción de ácido y la capacidad amortiguadora del alimento (Bellmann, Lelieveld, Gorissen, Minekus, & Havenaar, 2016). Al ingerir un alimento el pH del estómago incrementa y posteriormente va disminuyendo de manera gradual (Gardner, Ciociola, & Robinson, 2002; Koziolk et al., 2015; Malagelada, Longstreth, Summerskill, & Go, 1976), esa disminución gradual va a depender el alimento en cuestión. La evaluación de la sobrevivencia en la simulación gástrica cuando se evalúa en condiciones estáticas genera una sobreestimación de la inactivación de los microorganismos, ya que no plantean un escenario real. En esta sección, se evaluó el efecto de cuatro matrices alimentarias en la sobrevivencia de *S. enterica* en una simulación dinámica de las condiciones gástricas. En la Figura 31 se observa el comportamiento de seis cepas de *S. enterica* vehiculizadas en agua, jitomate, mango y pollo, respectivamente. Se obtuvieron reducciones entre 3.32 y 4.25 Log UFC, 2.82 y 4.52 Log UFC, 4.07 y 5.09 Log UFC, y 0.93 y 1.93 Log UFC, respectivamente. La disminución paulatina del pH dependiendo del tipo de alimento es un factor importante para tomar en cuenta en el comportamiento del patógeno vehiculado en diferentes matrices.



**Figura 31.** Comportamiento de cepas de *S. enterica* vehiculizadas en diferentes matrices durante la simulación gástrica.

A. Agua, B. Jitomate, C. Mango y D. Pollo

Estos resultados, así como otros que emplean condiciones gástricas dinámicas sugieren que una mayor fracción de células podría llegar al intestino con una disminución gradual del pH (Barmpalia-Davis, Geornaras, Kendall, & Sofos, 2008; Koseki et al., 2011; Melo et al., 2017). De forma general se encontró que la matriz alimentaria tuvo un efecto significativo sobre la inactivación de cepas de *S. enterica* ( $p < 0.05$ ). En orden decreciente las reducciones de las poblaciones de *S. enterica* en las cuatro matrices estudiadas fue: pollo > jitomate > agua > mango. Las reducciones del patógeno en agua fueron estadísticamente similares a las de jitomate y mango, pero estas últimas fueron diferentes entre sí. Dichos resultados sugieren un efecto protector del pollo, lo cual puede asociarse a su alto contenido de proteína. Estos resultados son similares a los obtenidos en otros estudios, en donde se ha observado que *S. enterica* vehiculizada en alimentos con alto contenido de grasa y/o proteína, así como aquellos que tienen una baja actividad de agua muestra una mayor sobrevivencia ante condiciones gástricas (Álvarez-Ordóñez et al., 2013; Aviles, Klotz, Smith, Williams, & Ponder, 2013a).

En la Tabla 51, se observan los parámetros estimados de la inactivación de *S. enterica* en las cuatro matrices alimentarias. Dado el comportamiento de este patógeno cuando es vehiculizado en agua, jitomate y mango, el modelo Geeraerd log lineal con cola fue empleado para modelar la inactivación de *S. enterica*. De manera general se observó que la tasa de inactivación ( $k_{max}$ ) fue mayor cuando el patógeno se vehiculizó en agua, seguido de mango y jitomate. Estos alimentos tienen poca actividad amortiguadora, la  $k_{max}$  es elevada, y los primeros minutos son cruciales para la reducción de los microorganismos. Por otra parte, para modelar el comportamiento de *S. enterica* en pollo se empleó el modelo log lineal, dada la capacidad amortiguadora de este alimento y la disminución gradual del pH, que también repercute en la disminución gradual del microorganismo. Finalmente, se evaluó la probabilidad de sobrevivir a las condiciones gástricas ( $P_{SCG}$ ), encontrando que de forma general cuando *S. enterica* se vehiculiza en jitomate y pollo tiene 4.5 y 327 veces más probabilidad de sobrevivir a la fase del estómago en comparación a cuando se vehiculiza en agua.

**Tabla 51.** Parámetros de inactivación de cepas de *S. enterica* en cuatro matrices alimentarias durante la simulación gástrica.

Cepa	Agua		Jitomate		Mango		Pollo	
	K <sub>max</sub> 1/min	LogN <sub>res</sub> Log UFC						
AGO_S289	0.18 ± 0.03	3.95 ± 0.20	0.15 ± 0.02	4.16 ± 0.17	0.16 ± 0.02	3.39 ± 0.21	0.032 ± 0.002	--
AGO_S293	0.16 ± 0.01	3.10 ± 0.15	0.18 ± 0.02	3.32 ± 0.26	0.19 ± 0.02	3.16 ± 0.20	0.035 ± 0.003	--
AGO_S357	0.13 ± 0.02	3.58 ± 0.33	0.11 ± 0.01	4.86 ± 0.17	0.20 ± 0.03	2.89 ± 0.18	0.030 ± 0.003	--
AGO_S388	0.19 ± 0.02	3.63 ± 0.15	0.14 ± 0.02	3.46 ± 0.27	0.15 ± 0.02	3.24 ± 0.19	0.032 ± 0.003	--
AGO_S406	0.19 ± 0.02	3.39 ± 0.21	0.16 ± 0.01	3.47 ± 0.16	0.13 ± 0.01	2.94 ± 0.22	0.024 ± 0.003	--
AGO_S414	0.17 ± 0.03	4.28 ± 0.18	0.14 ± 0.02	4.30 ± 0.21	0.18 ± 0.02	2.61 ± 0.24	0.023 ± 0.002	--
Promedio	0.17 ± 0.02	3.66 ± 0.42	0.15 ± 0.02	3.93 ± 0.61	0.17 ± 0.03	3.12 ± 0.20	0.029 ± 0.005	--

Dirección General de Biotecnología UAQ

**Tabla 52.** Probabilidad de *S. enterica* de sobrevivir a las condiciones gástricas cuando es vehiculizada en cuatro matrices alimentarias.

Cepa	Agua		Jitomate		Mango		Pollo	
	Media	DE	Media	DE	Media	DE	Media	DE
AGO_S289	$1.5 \times 10^{-5}$	$1.1 \times 10^{-5}$	$1.2 \times 10^{-3}$	$1.9 \times 10^{-3}$	$2.1 \times 10^{-4}$	$1.9 \times 10^{-4}$	$2.7 \times 10^{-2}$	$1.3 \times 10^{-2}$
AGO_S293	$4.7 \times 10^{-5}$	$4.4 \times 10^{-5}$	$2.1 \times 10^{-4}$	$1.6 \times 10^{-4}$	$5.4 \times 10^{-5}$	$7.0 \times 10^{-5}$	$2.8 \times 10^{-2}$	$3.0 \times 10^{-2}$
AGO_S357	$5.4 \times 10^{-4}$	$8.2 \times 10^{-4}$	$2.7 \times 10^{-3}$	$2.5 \times 10^{-3}$	$2.2 \times 10^{-4}$	$2.5 \times 10^{-4}$	$9.9 \times 10^{-2}$	$1.3 \times 10^{-1}$
AGO_S388	$3.3 \times 10^{-5}$	$1.6 \times 10^{-5}$	$2.8 \times 10^{-4}$	$5.3 \times 10^{-4}$	$1.3 \times 10^{-4}$	$2.3 \times 10^{-4}$	$3.9 \times 10^{-2}$	$2.7 \times 10^{-2}$
AGO_S406	$1.7 \times 10^{-4}$	$5.1 \times 10^{-5}$	$2.3 \times 10^{-4}$	$3.7 \times 10^{-4}$	$7.8 \times 10^{-5}$	$1.5 \times 10^{-4}$	$1.6 \times 10^{-1}$	$1.3 \times 10^{-1}$
AGO_S414	$5.9 \times 10^{-4}$	$2.7 \times 10^{-4}$	$1.5 \times 10^{-3}$	$2.0 \times 10^{-3}$	$5.1 \times 10^{-5}$	$1.0 \times 10^{-4}$	$7.4 \times 10^{-2}$	$3.3 \times 10^{-2}$
Promedio	$2.2 \times 10^{-4}$	$3.7 \times 10^{-4}$	$1.0 \times 10^{-3}$	$1.7 \times 10^{-3}$	$1.2 \times 10^{-4}$	$1.7 \times 10^{-4}$	$7.2 \times 10^{-2}$	$8.9 \times 10^{-2}$

## 7.8 Estimación de la probabilidad y severidad de la infección de *S. enterica*

### 7.8.1 Estandarización del modelo

En el 2017 Wijnands, Teunis, y Kuijpers publicaron un modelo gastrointestinal *in vitro* que permite cuantificar la sobrevivencia e infección de *Salmonella* en la fase gástrica e intestinal, así como evaluar la adherencia e invasión a células Caco-2. En este trabajo con la finalidad de poder estandarizar un modelo más realista se tomó como base el modelo de simulación gastrointestinal *in vitro-ex vivo* propuesto por Campos-Vega *et al.* (2015). Este modelo permitió evaluar el comportamiento de *Salmonella* a través de las diferentes etapas de la digestión (boca, estómago e intestino), la capacidad de adhesión e invasión de las cepas, así como el daño al tejido causado por el patógeno. Una de las ventajas más importantes de este modelo además de permitir evaluar todos los parámetros antes mencionados es la generación del microambiente intestinal mediante el modelo del saco intestinal invertido de rata que incluye factores como la diversidad de células y la presencia de la microbiota.

Se estandarizó un modelo gastrointestinal dinámico empleando *S. Typhimurium* ATCC 14028 como cepa de referencia y dos matrices alimentarias (agua y queso). En la Tabla 53 se muestra el comportamiento de *S. Typhimurium* en las dos matrices alimentarias a través del modelo gastrointestinal *in vitro/ex vivo*. No se encontró diferencia estadísticamente significativa ( $p > 0.05$ ) entre la matriz y la fase de la boca. Cuando *S. Typhimurium* fue vehiculizada en agua y queso después de la simulación gástrica se encontraron reducciones de 3.81 Log UFC y 2.29 Log UFC, respectivamente. Posteriormente en la fase intestinal se observó un incremento de la población. A mayor cantidad de células de *Salmonella* presentes en la luz intestinal, mayor fue la cantidad que se adhirió e invadió el íleon.

**Tabla 53.** Cambios en la población de *S. Typhimurium* durante la simulación gastrointestinal.

Matriz o fase	Población (Log UFC) <sup>1</sup>	
	Agua	Queso
Matriz	8.23 ± 0.03 <sup>a</sup>	7.85 ± 0.44 <sup>a</sup>
Boca	8.23 ± 0.04 <sup>a</sup>	8.06 ± 0.14 <sup>a</sup>
Estómago	4.42 ± 0.27 <sup>c</sup>	5.56 ± 0.43 <sup>c</sup>
Luz intestinal	4.85 ± 0.17 <sup>b</sup>	6.35 ± 0.40 <sup>b</sup>
Células adheridas al íleon <sup>2</sup>	4.12 ± 0.05 <sup>d</sup>	4.31 ± 0.25 <sup>d</sup>
Células que invadieron el íleon	3.38 ± 0.23 <sup>e</sup>	4.02 ± 0.33 <sup>d</sup>

<sup>1</sup>Se refiere a la población total en todos las diferentes etapas *in vitro/ex vivo*

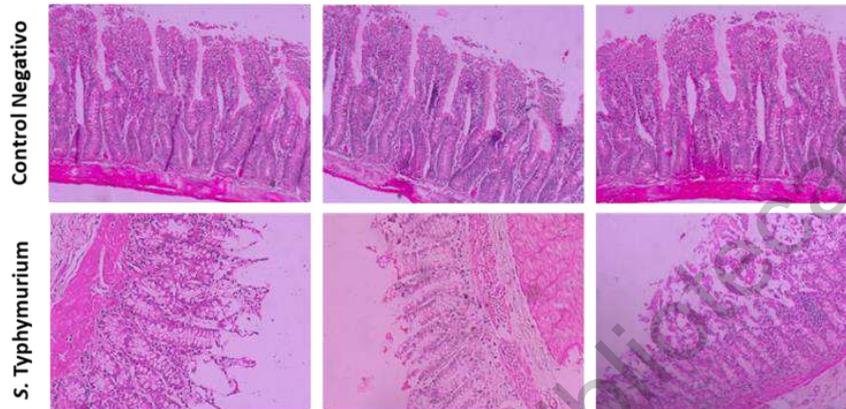
<sup>2</sup>Se refiere a la suma de células adheridas y células que invadieron en el íleon.

a,b,c,d Los valores son la media ± DE dos experimentos independientes por triplicado. Letras diferentes en las columnas son significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ) según la prueba de Tukey-Kramer.

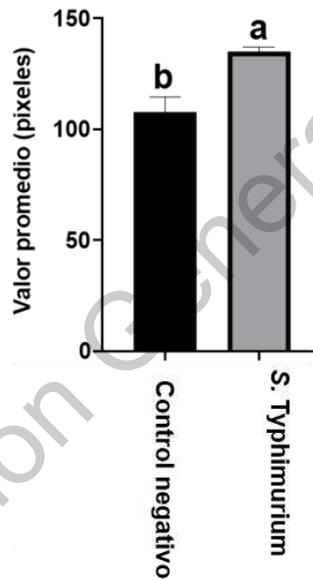
La complejidad de la interacción patógeno-huésped influye en la capacidad de adhesión e invasión de *Salmonella*; el uso de este modelo permitió incluir la complejidad de los tejidos intestinales y de la microbiota (Roeselers, Ponomarenko, Lukovac, & Wortelboer, 2013) y de esta manera será posible realizar estimaciones del riesgo más realistas. Una de las desventajas de este modelo es el corto tiempo de exposición que puede haber entre el patógeno y el tejido, debido a la corta viabilidad de este último (120 min aproximadamente). Por otro lado, usando el tejido se puede evaluar el daño que presenta como medida directa de la invasión y colonización de *Salmonella* (Schultz *et al.*, 2018). Este patógeno induce erosión y ulceración epitelial, infiltración de granulocitos polimorfonucleares y macrófagos a la lámina propia y elongación de las criptas (Darwin & Miller, 1999). En la Figura 32 se muestra el daño que genera *Salmonella* en el íleon después del tiempo de incubación, donde se observan diferencias en la conformación tisular como erosión de la membrana externa, presencia de criptas hiperplásicas y alargadas y aumento de la infiltración celular. Al comparar los tejidos en presencia y ausencia de *Salmonella*, no se observó una diferencia significativa en la integridad del epitelio. Sin embargo, en los tejidos en donde se encontraba *S. Typhimurium* se presentaron edemas moderados, varias agregaciones de PMN y mayores concentraciones de

células calciformes que en los tejidos sin *Salmonella* ( $p < 0.05$ ). Los análisis histológicos permitieron diferenciar los tejidos con y sin *Salmonella*, lo que podría permitir evaluar niveles de severidad del daño entre diferentes cepas.

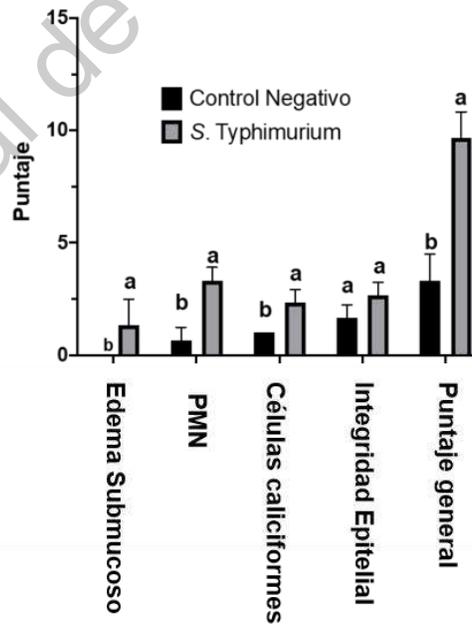
**A**



**B**



**C**



**Figura 32.** Evaluación del impacto de *S. Typhimurium* en el daño tisular de íleon de ratas.

(A) Imágenes representativas de muestras de íleon de ratas Wistar macho, teñidas con hematoxilina y eosina; (B) Cuantificación promedio de píxeles en la longitud de onda roja de las imágenes de la tinción con hematoxilina y eosina; (C) Evaluación del daño tisular mediante puntuación histológica de varios parámetros.

### 7.8.2 Evaluación de la variedad intra-especie de *S. enterica* durante la simulación gastrointestinal

Algunos estudios han observado diferencias en el nivel de virulencia de cepas de *S. enterica* (McCullough & Eisele, 1951b, 1951a; Teunis *et al.*, 2010). En este trabajo evaluamos la variabilidad intra-especie de las seis cepas seleccionadas durante una simulación gastrointestinal. En la Tabla 54 se muestra el comportamiento de las seis cepas a través del modelo gastrointestinal *in vitro/ex vivo* cuando se vehiculizan en agua. No se observaron cambios estadísticos en la población de patógenos entre la fase de agua y boca en ninguna cepa. Después de la fase gástrica, se observaron reducciones similares entre las cepas (~ 5 Log UFC). Solo las cepas AGO\_S388 y AGO\_S414 aumentaron significativamente su población en la fase intestinal ( $p < 0.05$ ). No se encontraron diferencias estadísticas en la reducción,  $R_{AD/LI}$ ,  $R_{IN/AD}$  y  $P_{inf}$  entre las cepas (Tabla 55). Esto podría estar relacionado principalmente con dos factores: 1) la alta variabilidad intra-cepa encontrada, que aumenta a medida que las células pasan por las etapas gastrointestinales, ya que se ha observado que cuando *S. enterica* es expuesta a ambientes fluctuantes se crean subpoblaciones con heterogeneidad fenotípica (Hernández, Cota, Ducret, Aussel, & Casadesús, 2012; Moreno-Gámez *et al.*, 2020; Singh & Barnard, 2017; Tsai & Coombes, 2019); y 2) al corto tiempo de exposición del patógeno al tejido intestinal (90 min), ya que algunos genes de virulencia tienden a expresarse posteriormente, como los asociados con la maduración de la SCV, replicación dentro de macrófagos, y evasión de mecanismos de defensa del huésped. Las clasificaciones de virulencia y MRA no tuvieron un efecto significativo sobre ninguno de los cuatro parámetros mencionados anteriormente ( $p > 0.05$ ). Zhou, Li, Xu, Shi, y Shi (2019) tampoco encontraron asociación entre la resistencia a los antimicrobianos y la capacidad invasiva de *S. enterica* en las células Caco-2. Hasta el momento, no se ha observado alguna tendencia específica sobre la asociación entre la virulencia y resistencia a antimicrobianos; sin embargo, se ha señalado que está dependería principalmente de la especie, los mecanismos de virulencia y resistencia a los antimicrobianos utilizados, el ambiente o nicho ecológico y el sistema inmunológico del huésped (Beceiro, Tomás, & Bou, 2013).

**Tabla 54.** Población de seis cepas de *S. enterica* durante el modelo *in vitro/ex vivo* gastrointestinal.

Fase	Población Log UFC <sup>1</sup>					
	AGO_S289	AGO_S293	AGO_S357	AGO_S388	AGO_S406	AGO_S414
Matriz	8.09 ± 0.09 <sup>a</sup>	8.16 ± 9.10 <sup>a</sup>	7.99 ± 0.18 <sup>a</sup>	8.04 ± 0.20 <sup>a</sup>	8.01 ± 0.17 <sup>a</sup>	8.15 ± 0.14 <sup>a</sup>
Boca	7.93 ± 0.15 <sup>a</sup>	7.90 ± 0.13 <sup>a</sup>	7.87 ± 0.14 <sup>a</sup>	7.99 ± 0.10 <sup>a</sup>	7.90 ± 0.18 <sup>a</sup>	7.92 ± 0.11 <sup>a</sup>
Estómago	2.65 ± 0.71 <sup>bc</sup>	2.59 ± 0.60 <sup>bc</sup>	2.87 ± 0.58 <sup>b</sup>	3.19 ± 0.42 <sup>cd</sup>	2.70 ± 0.67 <sup>bc</sup>	2.69 ± 0.38 <sup>c</sup>
Luz intestinal	3.43 ± 0.76 <sup>bc</sup>	3.40 ± 0.30 <sup>b</sup>	3.45 ± 0.27 <sup>b</sup>	4.25 ± 0.42 <sup>b</sup>	3.61 ± 0.35 <sup>b</sup>	3.76 ± 0.51 <sup>b</sup>
Células adheridas al íleon <sup>2</sup>	3.55 ± 0.85 <sup>b</sup>	3.39 ± 0.57 <sup>b</sup>	3.37 ± 0.45 <sup>b</sup>	3.57 ± 0.48 <sup>bc</sup>	3.25 ± 0.5 <sup>b</sup>	3.73 ± 0.32 <sup>b</sup>
Células que invaden el íleon	2.18 ± 1.26 <sup>c</sup>	2.44 ± 0.89 <sup>c</sup>	1.81 ± 0.44 <sup>c</sup>	2.36 ± 0.90 <sup>d</sup>	1.79 ± 1.02 <sup>c</sup>	2.04 ± 0.95 <sup>c</sup>

<sup>1</sup>Se refiere a la población total en todos las diferentes etapas *in vitro/ex vivo*

<sup>2</sup>Se refiere a la suma de células adheridas y células que invadieron en el íleon.

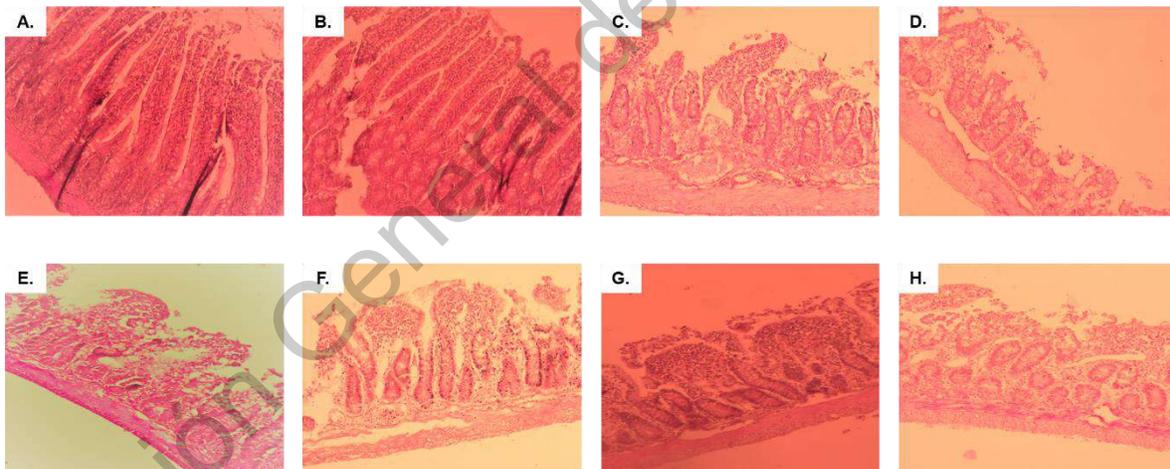
<sup>a,b,c,d</sup> Los valores son la media ± DE dos experimentos independientes por triplicado. Letras diferentes en las columnas son significativamente diferentes (p <0.05) según la prueba de Tukey-Kramer.

**Tabla 55.** Reducción gástrica y parámetros de la probabilidad de infectar de seis cepas de *S. enterica* obtenidos mediante un modelo *in vitro/ex vivo* gastrointestinal.

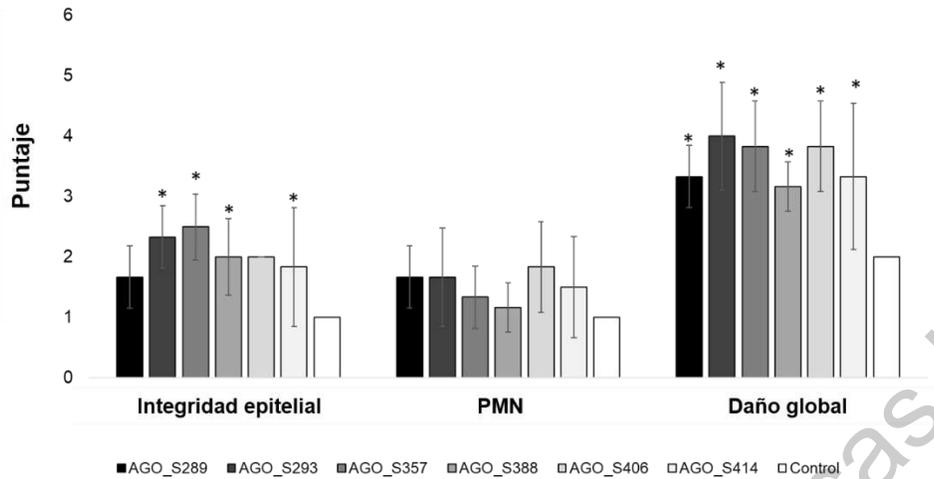
Strain	Reducción Log UFC	Parámetros		
		R <sub>AD/LI</sub>	R <sub>IN/AD</sub>	P <sub>inf</sub>
AGO_S289	5.28 ± 0.83	1.11 ± 0.15	0.56 ± 0.34	7.79 x10 <sup>-6</sup> ± 1.00x10 <sup>-5</sup>
AGO_S293	5.30 ± 0.65	1.01 ± 0.19	0.66 ± 0.18	2.8x10 <sup>-5</sup> ± 5.5x10 <sup>-5</sup>
AGO_S357	5.01 ± 0.67	1.06 ± 0.19	0.51 ± 0.18	1.17x10 <sup>-6</sup> ± 1.30x10 <sup>-6</sup>
AGO_S388	4.79 ± 0.48	0.90 ± 0.13	0.62 ± 0.24	8.29x10 <sup>-6</sup> ± 1.20x10 <sup>-5</sup>
AGO_S406	5.21 ± 0.75	0.97 ± 0.04	0.49 ± 0.22	3.41x10 <sup>-6</sup> ± 5.62x10 <sup>-6</sup>
AGO_S414	5.23 ± 0.47	1.08 ± 0.12	0.50 ± 0.24	3.77x10 <sup>-6</sup> ± 5.67x10 <sup>-6</sup>

R<sub>AD/LI</sub>= radio de las células adheridas y células presentes en la luz intestinal, R<sub>IN/AD</sub> = radio de las células invadidas y las células adheridas, P<sub>inf</sub> = probabilidad de infectar

En la Figura 33 se observan imágenes representativas de la tinción con H&E del íleon cuando fue expuesto a *S. enterica* durante 90 min en la fase intestinal, el control negativo (tejido expuesto 90 min en la fase intestinal sin ninguna cepa de *S. enterica*) y un tejido sin invertir. A simple vista es posible observar la diferencia entre los controles y el daño causado por las cepas de *Salmonella*. El análisis cuantitativo de la severidad del daño del tejido se muestra en la Figura 34. No se observaron diferencias estadísticas entre las cepas para ningún parámetro ( $p > 0.05$ ). Sin embargo, todas las cepas mostraron un daño global significativo con respecto al control, y con relación al daño de la integridad epitelial las cepas AGO\_S357, AGO\_S293, AGO\_S388 y AGO\_S406 causaron alteraciones significativas. Incluir este factor, ayudará a analizar de una manera más completa el proceso de infección de *Salmonella*, ya que como se mencionó previamente, a pesar de que la probabilidad de infectar es la misma, algunas cepas como las del virulotipo V5 (AGO\_S357 y AGO\_S293) causaron daño mayor a la integridad epitelial.



**Figura 33.** Imágenes representativas de tejido de íleon de ratas Wistar teñidas con hematoxilina y eosina (H&E) cuando fueron expuestas a diferentes cepas de *S. enterica* durante la simulación de fase intestinal. A. Tejido sin invertir, B. Tejido invertido sin exposición a ninguna cepa de *S. enterica* durante la simulación intestinal (control negativo), C. Tejido invertido expuesto a *S. enterica* AGO\_S289, D. Tejido invertido expuesto a *S. enterica* AGO\_S293, E Tejido invertido expuesto a *S. enterica* AGO\_S357, F. Tejido invertido expuesto a *S. enterica* AGO\_S388, G. Tejido invertido expuesto a *S. enterica* AGO\_S406, H. Tejido invertido expuesto a *S. enterica* AGO\_S414.



**Figura 34.** Evaluación del daño tisular de seis cepas de *S. enterica*.

\* Representa una diferencia estadísticamente significativa ( $p > 0.05$ ) en comparación con el control negativo usando la prueba de Dunnett. La integridad epitelial se clasificó como sin cambios (0), descamación (1), erosión (2), y ulceración (3), mientras que los PMN como sin agregaciones (0), 1 agregado pequeño (1), varias agregaciones de células y gran agregación de células (3). El daño global fue la suma de ambos parámetros.

## 7.9 Análisis de la secuenciación completa del genoma de seis cepas de *Salmonella*

La secuenciación de nueva generación ha mejorado la secuenciación completa del genoma (SCG), haciéndola más efectiva y a menor costo (Vincent, Derome, Boyle, Culley, & Charette, 2017). En los últimos años, los departamentos de salud pública en algunos paises como Estados Unidos han utilizado la SCG de patógenos transmitidos por los alimentos para caracterizar las cepas circulantes principalmente para la vigilancia epidemiológica (Rantsiou *et al.*, 2018). Rara vez se explora su uso en ECRM. Sin embargo, los datos de SCG pueden ayudar a mejorar la identificación de peligros, y refinar las etapas de la caracterización de peligros y evaluación de la exposición. La Figura 35 muestra el análisis SCG de las seis cepas de *S. enterica*. El pan-genoma de estas cepas contiene 6080 genes; de él, 3698 son genes centrales ("core") y 2382 genes de variables. Las cepas AGO\_S406 y

AGO\_S414 tienen un genoma igual, y con AGO\_S388 tienen un ancestro común reciente.

Las cepas AGO\_S293 y AGO\_S357 se identificaron como *S. enterica* serotipo Enteritidis, AGO\_S406 y AGO\_S414 como serotipo Schwarzengrund, AGO\_S289 como serotipo Saintpaul y AGOS\_S388 como serotipo Infantis. Las dos cepas previamente clasificadas como de alta virulencia por pertenecer al Virulotipo 5 corresponden al serotipo Enteritidis. Este serotipo y el serotipo Typhimurium son los serotipos aisladas con mayor frecuencia de casos clínicos en México (Gutiérrez-Cogco, Montiel-Vázquez, Aguilera-Pérez, & González-Andrade, 2000a; Realpe-Quintero *et al.*, 2018; Zaidi *et al.*, 2008). En Estados Unidos, *S. Enteritidis* es el serotipo con mayor incidencia y el más asociado a brotes (Luvsansharav *et al.*, 2020). A pesar de eso, en México no se han aislado o se han aislado con baja frecuencia cepas de este serotipo a partir de productos hortofrutícolas, cerdo y res (Cabrera-Díaz *et al.*, 2013; Pérez-Montaña *et al.*, 2012; Realpe-Quintero *et al.*, 2018; Villalpando-Guzmán, Vázquez-Quiñones, Natividad-Bonifacio, Curiel-Quesada, Quiñones-Ramírez, & Vázquez-Salinas, 2017b). En el caso de pollo, algunos estudios realizados en Querétaro y Yucatán han sido aisladas con mayor frecuencia cepas de *S. Enteritidis* (Alcaraz-González, 2016; Balbuena-Alonso, 2019; Zaidi *et al.*, 2006). Por otra parte, el serotipo Schwarzengrund, no ha sido reportado en nuestro país en cepas aisladas de alimentos ni de muestras humanas.

Se obtuvieron cuatro tipos diferentes de ST, uno por cada serotipo. Las cepas de *S. Enteritidis* pertenecieron al ST11, que es la ST más frecuente para este serotipo (Campioni, Pitondo-Silva, Bergamini, & Falcão, 2015; Ghaderi, Tadayon, Khaki, & Mosavari, 2015; Noda *et al.*, 2011; Papadopoulos *et al.*, 2016). Sin embargo, ST292, ST329, ST65, ST1632, ST1633 y ST1925 también se han asociado con *S. Enteritidis* (Campioni *et al.*, 2015; Zakaria *et al.*, 2020). Las cepas de *S. Schwarzengrund* en este y en otros estudios siempre se han relacionado con ST96 (Li *et al.*, 2014; Liu, Liu, Zhu, Yu, & Shi, 2011; Monte *et al.*, 2019). La cepa de *S. Infantis* tuvo el ST32, el cual es el más asociados con este serotipo (Almeida, Pitondo-Silva, Oliveira, & Falcão, 2013; Hauser *et al.*, 2012; Ranjbar, Rahmati, & Shokoohizadeh, 2018), sin embargo, también se han reportado cepas clasificadas

con el ST 7091 (Kürekci *et al.*, 2021). Finalmente, la cepa *S. Saintpaul* perteneció al ST50; ST25, ST49, ST344 y ST680 también han sido reportados en cepas de este serotipo (Gonzalez-Escalona, Aguirre-Sánchez, Ibarra-Rodríguez, Chaidez-Quiroz, & Martinez-Urtazac, 2019; Litrup *et al.*, 2010).

En cuanto a los genes de resistencia a antimicrobianos, todas las cepas tuvieron la presencia del gen *aac(6')-Iaa*, que se asocia a la resistencia a tobramicina y amikacina. Estudios similares han encontrado este gen conservado en cepas de *S. enterica* (Ben Hassena *et al.*, 2021; Lozano-Leon *et al.*, 2019). Sin embargo, todas las cepas de este estudio fueron fenotípicamente susceptibles a amikacina. Tendencia similar observó Neuert *et al.* (2018), sugiriendo que este gen no está activo la mayor parte del tiempo.

La resistencia a las fluoroquinolonas, principalmente ciprofloxacino, es un problema para la salud pública, ya que este antibiótico se utiliza principalmente para tratar infecciones invasivas y/o de cepas *S. enterica* MRA (Kariuki, Gordon, Feasey, & Parry, 2015). La resistencia a este antibiótico está asociada a la mutación en los genes *gyrA*, *gyrB*, *parC* y *parE*, el aumento de la expresión de AcrAB-TolC y la adquisición de genes de resistencia móvil (Chang *et al.*, 2021). En este caso, todas las cepas tuvieron el gen *qnrB19* y/o una mutación en los genes *parC* o *gyrA*. Comparando estos datos con la característica fenotípica, solo dos de ellas son resistentes a ciprofloxacino y el resto tiene una resistencia intermedia. Las dos cepas resistentes (AGO\_S406 y AGO\_S414) tienen el gen *qnrB19* y la mutación en *parC*. La presencia únicamente de mutaciones se ha asociado con un bajo nivel de resistencia a ciprofloxacino (Chang *et al.*, 2021; D. Lin, Chen, Wai-Chi Chan, & Chen, 2015), como observamos en este estudio.

Las cepas AGO\_S357 y AGO\_S388 tienen los genes *sul1*, *dfra12*, *tet(A)* ligados a la resistencia a sulfametoxazol, trimetoprima y tetraciclina. Ambas cepas han mostrado resistencia a estos antibióticos. Además de eso, los genes *aadA2* y *aadA1* también están presentes en las cepas AGO\_S357 y AGO\_S388, respectivamente, asociadas con la resistencia a la estreptomicina; sin embargo, una fue susceptible y la otra tuvo una resistencia intermedia a este antibiótico. Los genes *acc(3)-IV*, *aph(3')-Ia*, *aph(4)-Ia* y *blacTX.M.65* están presentes en la cepa

AGO\_S388, los cuales están asociados con resistencia a antibióticos aminoglucósidos y betalactámicos. Finalmente, la cepa AGO\_S357 contiene la isla genómica 1 de *Salmonella* (SG1) que contiene genes de resistencia a diferentes antimicrobianos (Boyd, Cloeckaert, Chaslus-Dancla, & Mulvey, 2002). SG1 se ha asociado principalmente a *S. Typhimurium* DT104. Sin embargo, también esta y sus variantes han sido encontrada en los serotipos Agona, Albany, Enteritidis, Infantis, Newport, Paratyphi y Schwarzengrund (Doublet, Boyd, Mulvey, & Cloeckaert, 2005; Ghodduzi, Nayeri Fasaeei, Zahraei Salehi, & Akbarein, 2019; Mulvey, Boyd, Olson, Doublet, & Cloeckaert, 2006).

En el caso de los genes de virulencia, todas las cepas tuvieron 290 de los 391 genes evaluados. El operón *stgABCD* y los genes *gogA* y *cdtB* no se encontraron en ninguna cepa. La mayor variabilidad de la presencia/ausencia se dió en los genes asociados a la adhesión de las células del intestino, a la replicación dentro del hospedador y a la resistencia a los genes del mecanismo de defensa del hospedador. Los genes u operones *fliB*, *fliA*, *pegABCD*, *sefABC*, *staABCDEFGF*, *stcABCD*, *stfACDEF*, *stkABCDEFGF*, *stjACB*, *tofABCD*, *lpfABCDE* y *pefBACD* fueron los que variaron entre los aislados. *S. Saintpaul* fue la cepa con el mayor número de genes asociados con la adhesión (138/164 genes). Los genes *steA*, *steB*, *sopE*, *sspH1* y *sspH2* fueron los genes variables asociados en los procesos de invasión y maduración de la SCV. Las dos cepas de *S. Enteritidis* tienen todos los genes asociados a la invasión y maduración de la SCV. En la etapa de replicación de *Salmonella* dentro del hospedador, los genes *steC*, *sseK1*, *sseK2*, *sseK3*, *gogB*, *sseI*, *gtgA*, *gtgE*, *spvR*, *spvA*, *spvB*, *spvC*, *spvD*, *mig-5* y *rck*, fueron los que mostraron variabilidad, la mayoría de estos genes son elementos genéticos móviles. Finalmente, los genes que ayudan al patógeno a evitar los mecanismos de defensa del huésped que no están presentes en todas las cepas son *sciC-sciW*, *vgrs*, *SodCI*, *mgsA*, *pltA*, *pltB*, *cdtB*, *hlyE*, *oafA* y *STM0557*. En general, la cepa de *S. Saintpaul* (345) tiene el mayor número de genes, seguida de las dos cepas de *S. Enteritidis* (338), las dos de *S. Schwarzengrund* (326) y la de *S. Infantis* (324).

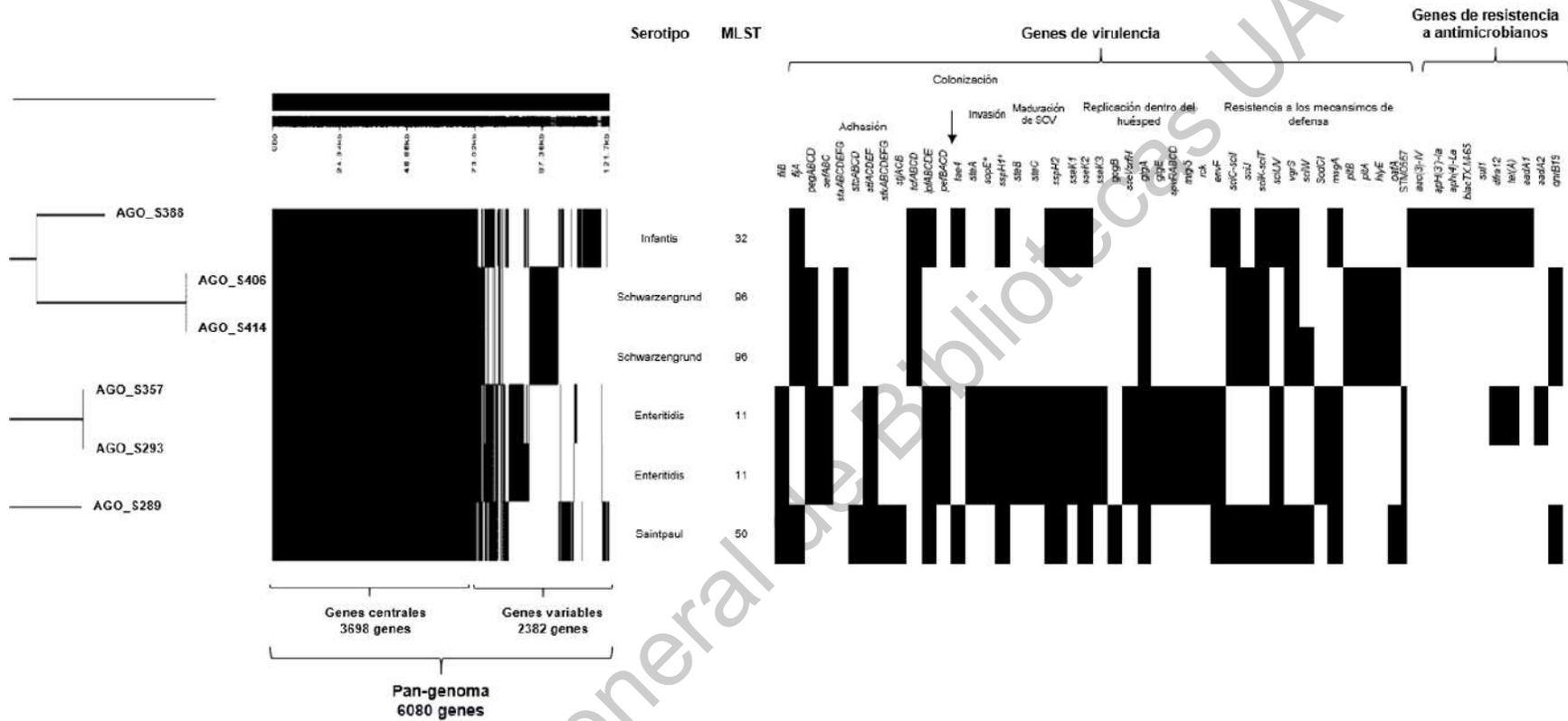
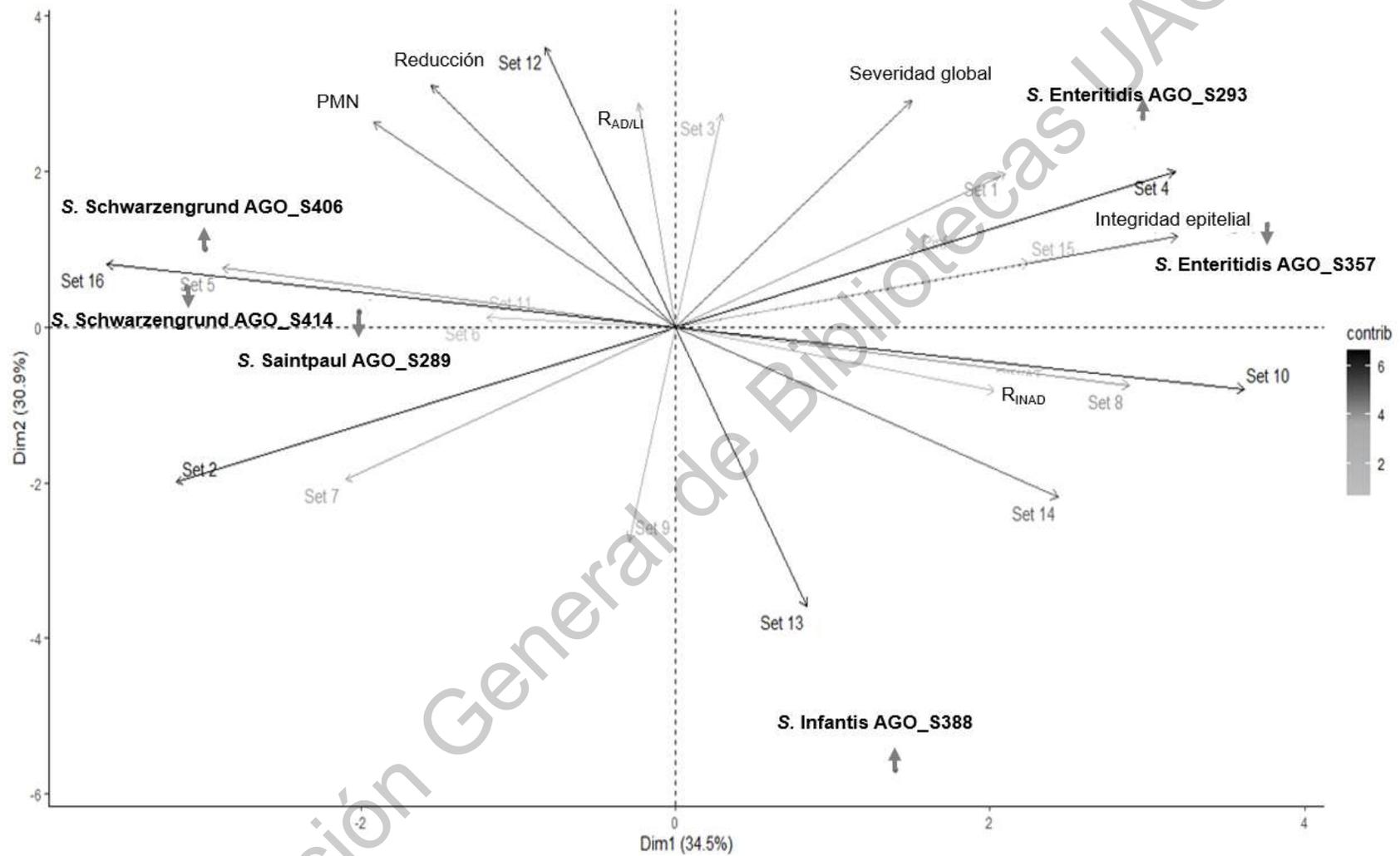


Figura 35. Análisis del genoma completo de seis cepas de *S. enterica*

## 7.10 Integración de la capacidad de virulencia y el genoma de seis cepas de *S. enterica*

Mediante un análisis de componentes principales se integró la información de los genes de virulencia y resistencia a antimicrobianos, y los parámetros del comportamiento de las cepas en el modelo gastrointestinal (Figura 36). Este análisis explica que el 65.4% de la variación con dos dimensiones (Dim-1 y Dim-2). Las cinco principales variables que afectan al Dim-1 son los genes presentes en el grupo 16, 2 y 4, así como la integridad epitelial, mientras que para Dim-2, son los genes del grupo 13 y 12, la reducción después de la condición gástrica, la severidad global y  $R_{AD/LI.A}$ . A pesar de no encontrar diferencias estadísticas entre los  $P_{inf}$  de las seis cepas, el análisis de componentes principales permitió mostrar que la  $P_{inf}$  y el daño epitelial están asociados positivamente con los genes del grupo 4 (*sefABC*, *pefBACD*, *steABC*, *sopE*, *ssel / srfH*, *gtgE*, *spvRABCD*, *mig-5*, *rck*, *seeK3*, y *SodCI*), el cual contiene genes móviles, y genes presentes en SPI-10 y SPI-16. Este conjunto de genes solo está presente en las cepas de *S. Enteritidis*. Estos genes codificaron proteínas necesarias en las cinco etapas del mecanismo de infección (adhesión, invasión, maduración de la SCV, replicación dentro del hospedador y resistencia a los mecanismos de defensa del hospedador). Los genes u operones *mig-5*, *pefABCD*, *rck* y *spvcRABCD* se han asociado previamente con una mayor sobrevivencia en macrófagos humanos (Seribelli *et al.*, 2020), y también estos elementos genéticos y el gen *SodCI* se han relacionado con una mayor  $P_{inf}$  (Kuijpers *et al.*, 2019). El operón *sef* y *pef* son adhesinas fimbriales implicadas en la unión del patógeno a las células epiteliales; promoviendo la colonización de bacterias (López, de las Mercedes Pescaretti, Morero, & Delgado, 2012). Otros factores de adhesión como adhesinas no fimbriales, flagelos y lipopolisacáridos se observaron en las diferentes cepas de *S. enterica*, sin embargo, el papel específico de cada uno de estos factores en el proceso de infección no se ha aclarado (Wagner & Hensel, 2011). Después de la unión de *S. enterica*, la SPI-1 conduce la invasión de la bacteria a las células huésped (Hensel, 2004). La presencia del profago *sopE* se ha asociado con el aumento de la invasión (Wood, Rosqvist, Mullan, Edwards, & Galyov, 1996).



**Figura 36.** Análisis de componentes principales para la integración del análisis de genoma y la capacidad de virulencia de cepas de *S. enterica*. Set= grupo

SopE promueve la ondulación de la membrana de las células epiteliales, lo que desencadena la internalización del patógeno (McGhie *et al.*, 2009). El resto de genes del grupo 4 se ha relacionado con la apoptosis de macrófagos (*seek3*, *spv*) (Libby, Lesnick, Hasegawa, Weidenhammer, & Guiney, 2000; Paesold, Guiney, Eckmann, & Kagnoff, 2002; Yu *et al.*, 2020), aumento de la proliferación celular (*setA*, *ssek3*, *spv*) e inhibición de la migración de macrófagos y células dendríticas (*sseI*) (McLaughlin *et al.*, 2009), lo que ayuda a propiciar una infección sistémica.

### **7.11 Modelo base del riesgo de enfermar de salmonelosis por el consumo de pollo preparado en el hogar en la región centro de México**

El modelo planteado en este estudio para evaluar el riesgo de enfermar por el consumo de pollo abarcó del punto de venta minorista al consumo de pollo preparado en el hogar. De acuerdo con las prácticas de manipulación de alimentos y los patrones de consumo, 14 de los 16 escenarios de consumo de pollo en el hogar son riesgosos. Los escenarios de riesgo se dan en el 19.7% de los casos, siendo el S2 el más frecuente (67.6%). Este escenario simula cuando el pollo crudo se compra en mercados, tianguis o pollería y después de la cocción tiene una contaminación cruzada. Por otro lado, el S16 es el menos frecuente (0.0002%); este escenario simula cuando el pollo crudo se compra en supermercados o mini supers, es almacenado incorrectamente, no se cocina adecuadamente y sufre una contaminación cruzada. Si bien la mayoría de las personas realizaron prácticas adecuadas de manipulación de alimentos, algunas están expuestas al patógeno en diferentes niveles según el escenario de riesgo.

La dosis media ingerida en casa entre los escenarios osciló entre 0.3 y 358.9 UFC por porción de consumo en una sola exposición. Debido a la falta de información en la vigilancia epidemiológica en México es imposible comparar las dosis estimadas en este estudio asociadas a pollo. Sin embargo, datos de brotes de *S. enterica* vinculados a pollo en Japón y Canadá indicaron una dosis ingerida de 0.0018 a 27 NMP/g o UFC/g (Catford, Ganz, & Tamber, 2017; Kasuga *et al.*, 2004), las cuales son similares a los encontrados en este estudio.

La probabilidad de enfermedad por el consumo de pollo en una sola exposición y el número de casos estimados para cada escenario se presentan en la Tabla 56. El S8 ( $7.8 \times 10^{-2}$ ) seguido de S16 ( $5.6 \times 10^{-2}$ ), son los escenarios con la mayor probabilidad de enfermedad. En esos escenarios, *S. enterica* puede crecer durante el almacenamiento, sobrevivir a la cocción y contaminar el producto por contaminación cruzada. La probabilidad media de enfermedad en S8 y S16 es 2.9 y 2.1 veces mayor que la media todos los escenarios ( $2.7 \times 10^{-2}$ ). A pesar de que S8 y S16 tienen la mayor probabilidad de enfermedad; no son responsables de la mayoría de los casos porque sus frecuencias de ocurrencia son las más bajas. El número de casos dependió de la ocurrencia de cada escenario, así como de su probabilidad de enfermedad. No necesariamente los escenarios con mayor riesgo son los responsables de la mayoría de los casos. Por ejemplo, el escenario de riesgo más frecuente fue el segundo con menor probabilidad de enfermarse. Sin embargo, no se encontró correlación entre la probabilidad de enfermedad y la frecuencia de ocurrencia de cada escenario

**Tabla 56.** Probabilidad de enfermedad por porción en una sola exposición y número de casos por cada escenario.

Escenario	Probabilidad de enfermar por el consumo de pollo en una sola exposición Media (IC 95%)	Número de casos Medía (IC 95%)
S2	$1.6 \times 10^{-3}$ ( $3.3 \times 10^{-5}$ – $9.4 \times 10^{-3}$ )	121363 (1846 – 762884)
S3	$1.2 \times 10^{-2}$ (0.0 – $1.4 \times 10^{-1}$ )	161 (0 – 1763)
S4	$1.3 \times 10^{-2}$ ( $3.9 \times 10^{-5}$ – $1.4 \times 10^{-1}$ )	108 (0 – 1084)
S6	$3.2 \times 10^{-2}$ ( $8.2 \times 10^{-4}$ – $1.5 \times 10^{-1}$ )	387915 (7711 – 2077221)
S7	$5.2 \times 10^{-2}$ (0 – $4.3 \times 10^{-1}$ )	185 (0 – 1718)
S8	$7.8 \times 10^{-2}$ ( $1.0 \times 10^{-3}$ – $4.3 \times 10^{-1}$ )	102 (1 – 645)
S10	$6.6 \times 10^{-4}$ ( $1.7 \times 10^{-5}$ – $3.9 \times 10^{-3}$ )	17360 (340 – 109065)
S11	$6.6 \times 10^{-3}$ (0.0 – $7.9 \times 10^{-2}$ )	52 (0 – 584)
S12	$7.1 \times 10^{-3}$ ( $2.0 \times 10^{-5}$ – $7.9 \times 10^{-2}$ )	21 (0 – 184)
S14	$1.9 \times 10^{-2}$ ( $4.4 \times 10^{-4}$ – $1.0 \times 10^{-1}$ )	76744 (1351 – 446977)
S15	$4.1 \times 10^{-2}$ (0.0 – $3.7 \times 10^{-1}$ )	50 (0 – 485)
S16	$5.6 \times 10^{-2}$ ( $5.2 \times 10^{-4}$ – $3.7 \times 10^{-1}$ )	25 (0 – 181)
	Promedio: $2.7 \times 10^{-2}$	Total: 60487 (11249 – 3402791)

El escenario con la probabilidad más baja de enfermedad tuvo una estimación de riesgo similar a la obtenida por Zhu *et al.* (2017), quien estimó un riesgo de  $1.2 \times 10^{-4}$  por el consumo de pollo preparado en el hogar en China. Por otro lado, la FAO y la OMS (2002) estimaron un riesgo menor para *S. enterica* en pollos ( $1.13 \times 10^{-5}$ ), y Pouillot *et al.* (2012) mayor ( $1.3 \times 10^{-1}$ ) a los estimados en los escenarios propuestos en este estudio. Otros modelos de ECRM han estimado un riesgo promedio de salmonelosis asociado a aves de corral, similar a los obtenidos en los diferentes escenarios propuestos (Bemrah *et al.*, 2003; Jeong *et al.*, 2018; Sampedro, Wells, Bender, & Hedberg, 2019; Smadi & Sargeant, 2013). La amplia diferencia entre el riesgo de salmonelosis en los diferentes estudios refleja la variabilidad natural de la distribución de *S. enterica*, las prácticas de manipulación de alimentos y los modelos de dosis-respuesta utilizados. Además, la mayoría de los modelos de ECRM se realizaron en países desarrollados, haciendo más complicada la comparación con los datos de México., ya que en países en vías de desarrollo como el nuestro, existe una deficiencia de información, recursos e infraestructura (Cahill & Jouve, 2004; Howard, Pedley, & Tibatemwa, 2006; Mahmoud, 2019).

Se estimaron un total de 604087 casos en la región centro de México por año. El S6 es responsable del 64.2% del total de casos, siendo su probabilidad de enfermedad  $3.2 \times 10^{-2}$ . En este escenario, las prácticas riesgosas son el almacenamiento inadecuado y la contaminación cruzada. Según el anuario de morbilidad de la Secretaría de Salud de México en 2019 se reportaron 12252 casos de salmonelosis (“otras salmonelosis” referidas a casos de *S. enterica* no tifoidea) (DGE, 2021). Godínez-Oviedo, Tamplin, Bowman, & Hernández-Iturriaga (2019) estimaron que los casos reales de transmisión alimentaria son alrededor de 49 veces más que los reportados, aplicando el factor de corrección se estimó que realmente en el 2019 ocurrieron 600348 casos de *S. enterica* en la región centro de México por el consumo de alimentos. En América Latina y el Caribe, se estima que el 11% de los casos de salmonelosis son asociados a pollo (Pires *et al.*, 2012), asumiendo este porcentaje, en 2019 alrededor de 66038 (IC 95% 11249-3402791 ) casos de *S. enterica* se asociaron con el consumo de pollo. Con el modelo base

planteado, se observó una sobreestimación de los casos reales. Sin embargo, la sobreestimación del riesgo en ECRM es normal debido a la gran cantidad de factores (entradas) incluidos en los modelos (Collineau *et al.*, 2020). De la misma forma, a pesar de que el modelo dosis-respuesta empleado es uno de los más utilizados, se creó a partir de datos de brotes, lo que tiende a sobreestimar la probabilidad de enfermedad al ignorar la compleja relación entre huésped y patógeno (Marks & Coleman, 2017), siendo esta la principal limitante del modelo.

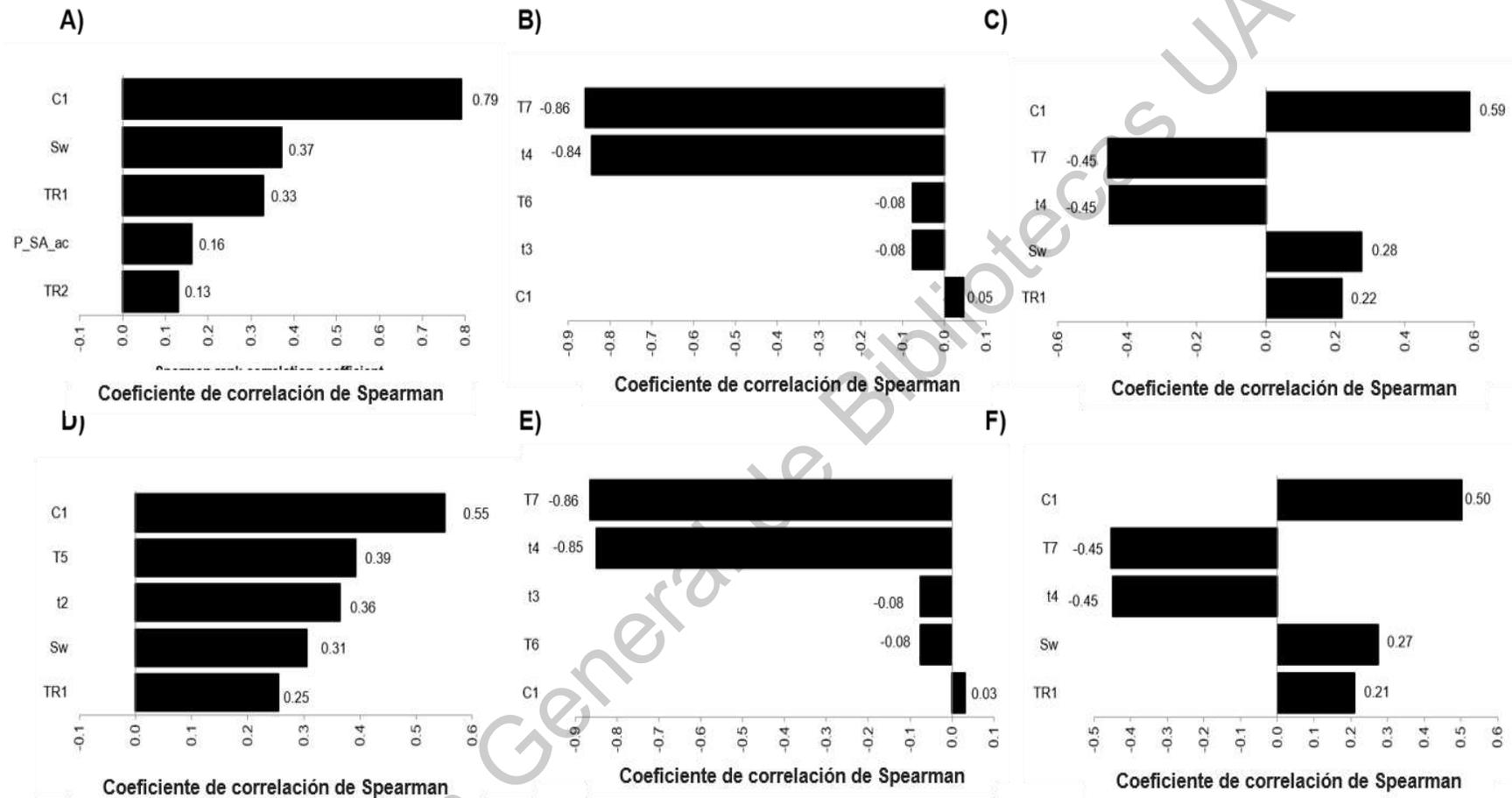
La ventaja del modelo base fue la inclusión de diferentes escenarios considerando la frecuencia de su ocurrencia, lo que permite analizar la implicación del comportamiento del consumidor de alimentos. De acuerdo con Khalid *et al.*, (2020), el papel del comportamiento del consumidor en el hogar es crucial para una correcta inclusión en una ECRM. A pesar de que, la mayoría de las personas realiza prácticas que no permiten el crecimiento de patógeno, el almacenamiento inadecuado aumenta el riesgo de 4 a 28 veces. Oscar (2017) encontró que un almacenamiento inadecuado antes de la preparación del pollo aumenta la concentración del patógeno y afecta significativamente el riesgo. La cocción es el punto crítico durante la preparación de la carne de pollo. La inactivación del patógeno depende del método de cocción, las características del producto, las condiciones de tiempo y temperatura, como las características de la cepa (Oscar, 2004). El proceso de cocción insuficiente puede permitir la sobrevivencia de algunas células del patógeno, sin embargo, cuando los productos se consumen en trozos o filetes, la mayoría de las células se encuentran en las superficies externas, y a pesar de la cocción insuficiente pueden inactivarse, solo aquellas células que se encuentren en zonas protegidas pueden sobrevivir (FAO/OMS, 2002). En México, no se dispone de información sobre la frecuencia de cocción insuficiente. Debido a que cocinar es un paso crítico, el uso de datos de otros países puede generar un sesgo. Además, de que los métodos de cocción varían entre los países (Godínez-Oviedo, Sampedro Parra, Machuca Vergara, Gutiérrez González, & Hernández Iturriaga, 2019; Langsrud *et al.*, 2020). Por estas razones, en este estudio, la frecuencia de sobrevivencia de *S. enterica* se determinó utilizando la frecuencia de los métodos de cocción empleados, y los porcentajes de sobrevivencia de *S.*

*enterica* ante dichos métodos de cocción. Este enfoque permitió disminuir el sesgo durante la cocción. Sin embargo, es necesario investigar los tiempos de cocción y los perfiles de temperatura de acuerdo con cada método de cocción, así como la evaluación de los perfiles de resistencia al calor de las cepas circulantes en la región centro de México.

La Figura 73 muestra el análisis de sensibilidad mediante el coeficiente de correlación de Spearman para las cinco entradas principales que tuvieron la mayor influencia en la probabilidad de enfermar para los escenarios RP1. Los escenarios RP2 no se muestran, sin embargo, tuvieron tendencias similares a sus análogos en RP1. La concentración de *S. enterica* (C1.i) siempre se encuentra entre las cinco primeras entradas que más influyen en la probabilidad de enfermar. En los escenarios con contaminación cruzada, la tasa de transferencia de pollo crudo a superficies es uno de los insumos con mayor influencia positiva. Mientras que para los escenarios donde *S. enterica* sobrevive durante la cocción, la temperatura y el tiempo de cocción a la parrilla o empanizado tuvieron una alta influencia.

#### **7.12 Refinamiento del modelo base del riesgo de enfermar de salmonelosis por el consumo de pollo preparado en el hogar en la región centro de México**

Recientemente, ha cobrado importancia la variabilidad biológica intra-especie de los patógenos transmitidos por los alimentos, incluida la variabilidad de la virulencia (Cocolin *et al.*, 2018; den Besten *et al.*, 2018; Fritsch, Guillier, & Augustin, 2018; Haddad *et al.*, 2018). Algunos autores han establecido y evaluado la importancia de considerar la variabilidad intra-especie de la virulencia de *S. enterica* durante la estimación del riesgo (Oscar, 2017, 2019; Sampedro, Wells, Bender, & Hedberg, 2019). Dichas estimaciones se han realizado tomando en cuenta el serotipo. Sin embargo, Teunis *et al.* (2010) no observó diferencias entre los modelos de dosis-respuesta generados utilizando diferentes serotipos. Por otro lado, McCullough y Eisele (McCullough & Eisele, 1951b, 1951a) mostraron que cepas del mismo serotipo (*S. Anatum*) generaron modelos de dosis-respuesta muy diferentes.



**Figura 37.** Top 5 de las entradas con mayor influencia en la variabilidad de la probabilidad de enfermedades.

En este estudio, la variabilidad en la virulencia se estableció basándose en la presencia de ciertos genes de virulencia en cepas de *S. enterica*. Las cepas se clasificaron en tres niveles de virulencia. Las cepas de baja virulencia pertenecen a V1 (*agfA-hilA-orgA-sipA-sifA-sseF-sseL-invA-ssaQ*); las cepas de moderada virulencia a V2 (*agfA-hilA-orgA-sipA-sifA-sseF-sseL-invA-ssaQ-sspH1*), V3 (*agfA-hilA-orgA-sipA-sifA-sseF-sseL-invA-ssaQ-sspH1-sopE*) y V7 (*agfA-hilA-orgA-sipA-sifA-sseF-sseL-invA-ssaQ-sopE*); y las cepas de alta virulencia a V4 (*agfA-hilA-orgA-sipA-sifA-sseF-sseL-invA-ssaQ-sspH1-pefA-spvC*) y V5 (*agfA-hilA-orgA-sipA-sifA-sseF-sseL-invA-ssaQ-sspH1-spoE-pefA-spvC*). En algunas muestras se encontró la coocurrencia de cepas con diferentes niveles de virulencia (baja/moderada, baja/moderada/alta y moderada/alta) y diferentes perfiles de antibióticos (MRA y no MRA). Para estas situaciones, se estimó la prevalencia de *S. enterica* considerando el mayor nivel de virulencia de las cepas encontradas en la muestra, y, además, si en la misma muestra se encontraron cepas MRA y no MRA, se agrupó en los grupos MRA. La Tabla 57 muestra la prevalencia de *S. enterica* en pollo crudo por punto de venta fraccionado en seis grupos.

**Tabla 57.** Prevalencia de *S. enterica* en pollo crudo fraccionada en los seis grupos

Nivel de virulencia	Multi-resistencia a antibióticos	Prevalencia en RP1	Prevalencia en RP2
Bajo	no-MRA	=RiskBeta (2, 202)	=RiskBeta (1, 103)
Bajo	MRA	=RiskBeta (6,198)	=RiskBeta (1, 103)
Moderado	no-MRA	=RiskBeta (6,198)	=RiskBeta (3,101)
Moderado	MRA	=RiskBeta (31, 173)	=RiskBeta (18, 86)
Alto	no-MRA	=RiskBeta (1, 203)	=RiskBeta (3, 101)
Alto	MRA	=RiskBeta (2, 202)	=RiskBeta (6, 98)

Se asumió que el crecimiento, la inactivación, la transferencia y la respuesta del modelo de dosis-respuesta son las mismas para cepas MRA y no MRA al igual que en el estudio Pouillot *et al.* (2012). Las cepas MRA solo afectaron únicamente la severidad de la enfermedad.

La probabilidad de enfermar por *S. enterica* de baja, moderada y alta virulencia, presentó rangos de  $2.4 \times 10^{-9}$  a  $3.7 \times 10^{-6}$ ,  $7.4 \times 10^{-8}$  a  $1.2 \times 10^{-4}$ ,  $6.5 \times 10^{-4}$  a  $7.8 \times 10^{-2}$ , respectivamente (Tabla 58). Se encontraron grandes diferencias en la probabilidad de enfermedad según el nivel de virulencia, hasta de 105.4 veces. La probabilidad de enfermar de *S. enterica* de alta virulencia es la misma que la del modelo de referencia porque se utilizó el mismo modelo de dosis-respuesta. La Tabla 59 muestra el número de casos según los seis grupos de *S. enterica* presentes en el pollo crudo, encontrando una disminución del 89% de los casos estimados en el modelo base. Los casos estimados con el modelo refinado (66064 casos) son muy similares a los casos esperados (66038 casos). Este enfoque permite equilibrar la subestimación y la sobreestimación del riesgo. A pesar de la baja prevalencia de cepas de *S. enterica* de alta virulencia, estas son responsables del 99.9% del total de casos (66.6% de MRA de alta virulencia y 33.3% de no MRA de alta virulencia).

La inclusión de las características de los aislados de *S. enterica* modificó la proporción del total de casos estimados en cada punto de venta, encontrando que el pollo comprado en supermercados y mini super es responsable de un mayor porcentaje de casos en comparación con el porcentaje estimado con el modelo base. En los escenarios del modelo base, el número de casos estimados cuando el pollo crudo se compra en el mercado, las tiendas de pollería y el tianguis es de 3.1 a 7 veces mayor que su análogo el que se compra en mini super y supermercados. Sin embargo, cuando se refina el modelo, el número de casos en algunos escenarios RP1 solo es mayor de 1.1 a 1.4 veces, en otros es el mismo y en otros es menor hasta 1.4 veces. Esto está asociado con la presencia de cepas altamente virulentas y MRA en las tiendas RP2.

**Tabla 58.** Probabilidad de enfermedad por porción en una exposición por *S. enterica* de baja, moderada y alta virulenta.

Escenario	Probabilidad de enfermar por porción en una sola exposición		
	Media (IC 95%)		
	<i>S. enterica</i> de baja virulencia	<i>S. enterica</i> de moderada virulencia	<i>S. enterica</i> de alta virulencia
S2	$5.9 \times 10^{-9}$ ( $1.2 \times 10^{-10}$ - $3.5 \times 10^{-8}$ )	$1.8 \times 10^{-7}$ ( $3.6 \times 10^{-9}$ - $1.1 \times 10^{-6}$ )	$1.6 \times 10^{-3}$ ( $3.3 \times 10^{-5}$ - $9.4 \times 10^{-3}$ )
S3	$9. \times 10^{-8}$ (0.0 - $9.2 \times 10^{-7}$ )	$3.1 \times 10^{-6}$ (0.0 - $3.0 \times 10^{-5}$ )	$1.2 \times 10^{-2}$ (0.0 - $1.4 \times 10^{-1}$ )
S4	$1.0 \times 10^{-7}$ ( $1.4 \times 10^{-10}$ - $9.5 \times 10^{-7}$ )	$3.2 \times 10^{-6}$ ( $4.3 \times 10^{-9}$ - $2.9 \times 10^{-5}$ )	$1.3 \times 10^{-2}$ ( $3.9 \times 10^{-5}$ - $1.4 \times 10^{-1}$ )
S6	$2.1 \times 10^{-7}$ ( $3.1 \times 10^{-8}$ - $1.3 \times 10^{-6}$ )	$6.5 \times 10^{-6}$ ( $9.5 \times 10^{-8}$ - $3.9 \times 10^{-5}$ )	$3.2 \times 10^{-2}$ ( $8.2 \times 10^{-4}$ - $1.5 \times 10^{-1}$ )
S7	$3.5 \times 10^{-6}$ (0.0 - $3.1 \times 10^{-5}$ )	$1.1 \times 10^{-4}$ (0.0 - $9.6 \times 10^{-4}$ )	$5.2 \times 10^{-2}$ (0 - $4.3 \times 10^{-1}$ )
S8	$3.7 \times 10^{-6}$ ( $3.6 \times 10^{-9}$ - $3.1 \times 10^{-5}$ )	$1.2 \times 10^{-4}$ ( $1.1 \times 10^{-6}$ - $9.8 \times 10^{-4}$ )	$7.8 \times 10^{-2}$ ( $1.0 \times 10^{-3}$ - $4.3 \times 10^{-1}$ )
S10	$2.4 \times 10^{-9}$ ( $6.2 \times 10^{-11}$ - $1.4 \times 10^{-8}$ )	$7.4 \times 10^{-8}$ ( $2.0 \times 10^{-9}$ - $4.5 \times 10^{-7}$ )	$6.5 \times 10^{-4}$ ( $1.7 \times 10^{-5}$ - $3.9 \times 10^{-3}$ )
S11	$4.1 \times 10^{-8}$ (0.0 - $4.0 \times 10^{-7}$ )	$1.3 \times 10^{-6}$ (0.0 - $1.3 \times 10^{-5}$ )	$6.6 \times 10^{-3}$ (0.0 - $7.9 \times 10^{-2}$ )
S12	$4.4 \times 10^{-8}$ ( $8.3 \times 10^{-11}$ - $4.2 \times 10^{-7}$ )	$1.3 \times 10^{-6}$ ( $2.3 \times 10^{-9}$ - $1.3 \times 10^{-2}$ )	$7.2 \times 10^{-3}$ ( $2.0 \times 10^{-5}$ - $7.9 \times 10^{-2}$ )
S14	$9.7 \times 10^{-8}$ ( $8.3 \times 10^{-10}$ - $4.2 \times 10^{-7}$ )	$3.1 \times 10^{-6}$ ( $5.1 \times 10^{-8}$ - $1.9 \times 10^{-5}$ )	$1.9 \times 10^{-2}$ ( $4.4 \times 10^{-4}$ - $1.0 \times 10^{-1}$ )
S15	$1.6 \times 10^{-6}$ (0.0 - $1.5 \times 10^{-5}$ )	$5.4 \times 10^{-5}$ (0.0 - $4.9 \times 10^{-4}$ )	$4.1 \times 10^{-2}$ (0.0 - $3.7 \times 10^{-1}$ )
S16	$1.8 \times 10^{-6}$ ( $1.9 \times 10^{-9}$ - $1.6 \times 10^{-5}$ )	$5.3 \times 10^{-5}$ ( $5.7 \times 10^{-8}$ - $4.0 \times 10^{-4}$ )	$5.6 \times 10^{-2}$ ( $5.2 \times 10^{-4}$ - $3.7 \times 10^{-1}$ )
	Promedio: $9.3 \times 10^{-7}$	Promedio: $3.0 \times 10^{-5}$	Promedio: $2.7 \times 10^{-2}$

Hasta donde sabemos, la severidad de la enfermedad en los modelos ECRM de *S. enterica* solo se ha incluido en los estudios de Oscar (2019) y Oscar (2017) considerando la severidad como la relación que existe entre la dosis consumida y la dosis necesaria para causar enfermedad. En nuestro estudio, la severidad se evaluó teniendo en cuenta los AVD. Se asumió que los aislamientos de alta, moderada y baja virulencia causan diarrea severa, moderada y leve, y que las cepas MRA prolongan la duración de la enfermedad.

**Tabla 59.** Número de casos de salmonelosis por consumo de pollo en la región centro de México según los seis diferentes grupos de cepas presentes en el alimento.

Escenario	Número de casos Media (95%IC)						Total de casos por escenario
	Baja virulencia / no MRA	Baja virulencia / MRA	Moderada virulencia / no MRA	Moderada virulencia / MRA	Alta virulencia / no MRA	Alta virulencia / MRA	
S2	0 (0 - 0)	0 (0 - 0)	2(0 - 12)	10 (0 - 63)	2720 (8 - 19009)	5496 (44 - 36353)	8228 (52 - 55437)
S3	0 (0 - 0)	0 (0 - 0)	0 (0 - 0)	0 (0 - 0)	6 (0 - 65)	12 (0 - 133)	18 (0 - 198)
S4	0 (0 - 0)	0 (0 - 0)	0 (0 - 0)	0 (0 - 0)	2 (0 - 24)	5 (0 - 50)	7 (0 - 74)
S6	0 (0 - 1)	0 (0 - 2)	11 (0 - 66)	54 (0 - 335)	8870 (32 - 59164)	17642 (176 - 107755)	26577 (208 - 167323)
S7	0 (0 - 0)	0 (0 - 0)	0 (0 - 0)	0 (0 - 2)	4 (0 - 45)	8 (0 - 86)	12 (0 - 133)
S8	0 (0 - 0)	0 (0 - 0)	0 (0 - 0)	0 (0 - 1)	2 (0 - 18)	5 (0 - 33)	7 (0 - 52)
S10	0 (0 - 0)	0 (0 - 0)	0 (0 - 1)	1 (0 - 8)	1928 (25 - 12661)	3785 (65 - 24094)	5713 (90 - 36764)
S11	0 (0 - 0)	0 (0 - 0)	0 (0 - 0)	0 (0 - 0)	6 (0 - 62)	11 (0 - 126)	17 (0 - 188)
S12	0 (0 - 0)	0 (0 - 0)	0 (0 - 0)	0 (0 - 0)	2 (0 - 24)	5 (0 - 48)	7 (0 - 72)
S14	0 (0 - 0)	0 (0 - 0)	1 (0 - 9)	8 (0 - 53)	8421 (100 - 52463)	17021 (261 - 100999)	25441 (361 - 153524)
S15	0 (0 - 0)	0 (0 - 0)	0 (0 - 0)	0 (0 - 0)	6 (0 - 57)	11 (0 - 110)	17 (0 - 167)
S16	0 (0 - 0)	0 (0 - 0)	0 (0 - 0)	0 (0 - 0)	3 (0 - 21)	6 (0 - 41)	9 (0 - 62)
Total de casos	0 (0 - 1)	0 (0 - 2)	14 (0 - 88)	73 (0 - 462)	21970 (165 - 143613)	44007 (546 - 269828)	66064 (711 - 413994)

La MRA de *S. enterica* se ha relacionado con los tiempos de hospitalización más largos (Duong *et al.*, 2020; Parisi *et al.*, 2018). La Tabla 60 muestra el AVD al consumir pollo contaminado con cada grupo de *S. enterica* para personas <5 años y >5años. El AVD general para MRA es 2.6 veces mayor que el de no MRA, mientras que el AVD de las cepas de alta virulencia tiene una diferencia muy grande en comparación con las cepas de virulencia baja y moderada. Teniendo en cuenta la población de la región centro de México en 2020, el AVD para niños <5 años (4,247,821) es 6.8 veces más que para personas >5 años (51,933,661).

**Tabla 60.** Años vividos con la discapacidad (diarrea) provocada por el consumo de pollo contaminado con diferentes grupos de *S. enterica* en la región centro de México.

Grupo de <i>S. enterica</i>	AVD Media (95% IC)	
	<5 años	>5 años
Baja virulencia / no MRA	--	--
Baja virulencia / MRA	--	--
Moderada virulencia / no MRA	$1.2 \times 10^{-2}$ ( $8.9 \times 10^{-3}$ - $1.6 \times 10^{-2}$ )	$2.2 \times 10^{-2}$ ( $1.6 \times 10^{-2}$ - $2.9 \times 10^{-2}$ )
Moderada virulencia / MRA	$8.3 \times 10^{-2}$ ( $6.0 \times 10^{-2}$ - $1.1 \times 10^{-1}$ )	$1.5 \times 10^{-1}$ ( $1.1 \times 10^{-1}$ - $2.0 \times 10^{-1}$ )
Alta virulencia / no MRA	46.5 (24.4 - 83.5)	84.1 (44.2 - 151.0)
Alta virulencia / MRA	121.0 (63.6 - 217.3)	219.0 (115.2 - 393.2)
Total no MRA	46.5 (24.5 - 83.5)	84.1 (44.3 - 151.0)
Total MRA	121.1 (63.7 - 217.3)	219.0 (115.3 - 393.4)

## 8 CONCLUSIONES

- En México existe una necesidad apremiante de que el gobierno, la industria, los centros de investigación y los consumidores trabajen juntos para disminuir el riesgo de enfermarse de salmonelosis por el consumo de alimentos.
- La vigilancia epidemiológica de *S. enterica* en México debe continuar mejorando para disminuir el número de casos sin diagnóstico y vincular los casos con un alimento específico. Asimismo, los investigadores deben continuar evaluando la prevalencia y concentración de *S. enterica* en alimentos, principalmente en comida artesanal y típica mexicana.
- El comportamiento del consumidor de alimentos tiene un impacto crucial en la evaluación de la exposición a *S. enterica*, siendo necesario continuar con investigaciones para comprender sus implicaciones sobre el riesgo de enfermarse por este patógeno. En este estudio se encontró que no necesariamente los alimentos con mayor prevalencia y concentración del patógeno son los más riesgosos.
- Los datos científicos y la autopercepción del consumidor de haber padecido salmonelosis clasificaron las carnes frescas y algunas frutas y verduras como los principales alimentos asociados con *S. enterica*.
- El pollo es el alimento que más se asoció a *S. enterica* en la región centro de México, teniendo como base la alta prevalencia y concentración del patógeno. Un dato interesante es que las cepas aisladas de este alimento mostraron mayor MRA y presencia de un mayor número de genes de virulencia.
- Existe una enorme variabilidad biológica entre los aislados de *S. enterica*, que puede tener implicaciones en la evaluación de la exposición y la caracterización del peligro. Por lo tanto, es importante seleccionar cepas representativas para crear modelos predictivos de crecimiento, inactivación y transferencia, modelos dosis-respuesta y otros estudios que permitan evaluar la variabilidad entre cepas. Además, es fundamental integrar la información para analizar el costo

beneficio de ciertas características, ya que algunas pueden ser útiles en ciertas circunstancias y en otras ocasionar un costo en la eficiencia biológica.

- En condiciones gástricas simuladas, *S. enterica* mostró una gran variabilidad en la reducción, la cual no se asoció con el virulotipo ni la MRA, pero sí con el origen y la temporada de aislamiento.
- La matriz alimentaria tiene un gran impacto en la sobrevivencia de *S. enterica* en condiciones gástricas simuladas, lo que sugiere que los modelos de dosis-respuesta ajustados a la matriz alimentaria podrían predecir estimaciones más precisas.
- No se encontraron diferencias en la capacidad de virulencia de seis cepas seleccionadas de *S. enterica*. Sin embargo, fue posible observar una asociación entre la probabilidad y severidad de la infección con la presencia de elementos genéticos móviles, lo cual resalta que cepas que tengan presentes estos genes puede ser hipervirulentas, señalando que la presencia de genes de virulencia específicos puede ayudar a mejorar la caracterización del peligro. Sin embargo, se necesitan más estudios para comprender el impacto sobre el riesgo.
- Los modelos ECRM destacan que los casos estimados dependen de la probabilidad de enfermar, así como de la ocurrencia de cada escenario.
- El modelo refinado genera una estimación más precisa de los casos de salmonelosis vinculados al pollo, destacando que algunos escenarios que tuvieron una menor probabilidad de enfermedad respecto a otros con el modelo, con el refinamiento, mostraron un comportamiento opuesto debido a la inclusión de las características de los aislados. Estos hallazgos pueden ayudar a los gestores de riesgos a crear medidas correctivas y predictivas precisas, así como campañas de educación efectivas para la población de la región central de México para disminuir los casos de salmonelosis.

## 9 LITERATURA CITADA

Abdelhedi, O., Nasri, R., Jridi, M., Mora, L., Oseguera-Toledo, M. E., Aristoy, M.-C., ... Nasri, M. (2017). *In silico* analysis and antihypertensive effect of ACE-inhibitory peptides from smooth-hound viscera protein hydrolysate: Enzyme-peptide interaction study using molecular docking simulation. *Process Biochemistry*, 58, 145–159. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2017.04.032>

Abushelaibi, A. A., Sofos, J. N., Samelis, J., & Kendall, P. A. (2003). Survival and growth of *Salmonella* in reconstituted infant cereal hydrated with water, milk or apple juice and stored at 4°C, 15°C and 25°C. *Food Microbiology*, 20(1), 17–25. [https://doi.org/10.1016/S0740-0020\(02\)00136-3](https://doi.org/10.1016/S0740-0020(02)00136-3)

Adak, G. K., Meakins, S. M., Yip, H., Lopman, B. A., & O'Brien, S. J. (2005). Disease risks from foods, England and Wales, 1996-2000. *Emerging Infectious Diseases*, 11(3), 365–372. <https://doi.org/10.3201/eid1103.040191>

Aguilar-MontesDeOca, S., Talavera-Rojas, M., Soriano-Vargas, E., Barba-León, J., Vázquez-Navarrete, J., Acosta-Dibarrat, J., & Salgado-Miranda, C. (2017). Phenotypic and genotypic profile of clinical and animal multidrug-resistant *Salmonella enterica* isolates from. *Journal of Applied Microbiology*, 124, 67–74. <https://doi.org/10.1111/jam.13615>

Aguilar-Vázquez, J. C. (2015). *Incidencia y comportamiento de Salmonella en alimentos de baja actividad de agua* (Universidad Autónoma de Querétaro). Retrieved from <http://ri-ng.uaq.mx/handle/123456789/780>

Ahmed, A. M., & Shimamoto, T. (2014). Isolation and molecular characterization of *Salmonella enterica*, *Escherichia coli* O157: H7 and *Shigella* spp. from meat and dairy products in Egypt. *International Journal of Food Microbiology*, 168–169(January), 57–62. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.10.014>

Ahmed, H. A., El-Hofy, F. I., Shafik, S. M., Abdelrahman, M. A., & Elsaid, G. A. (2016). Characterization of virulence-associated genes, antimicrobial resistance genes, and class 1 integrons in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium isolates from chicken meat and humans in Egypt. *Foodborne Pathogens and Disease*, 13(6), 281–288. <https://doi.org/10.1089/fpd.2015.2097>

- Akbar, A., & Anal, A. K. (2015). Isolation of *Salmonella* from ready-to-eat poultry meat and evaluation of its survival at low temperature, microwaving and simulated gastric fluids. *Journal of Food Science and Technology*, 52(5), 3051–3057. <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1354-2>
- Akil, L., & Ahmad, H. A. (2019). Quantitative risk assessment model of human salmonellosis resulting from consumption of broiler chicken. *Diseases*, 7(1), 19. <https://doi.org/10.3390/diseases7010019>
- Alcaraz-González, A. (2016). *Análisis temporal de la prevalencia, distribución, y diversidad de S. enterica en carne de pollo en Querétaro*. Universidad Autónoma de Querétaro.
- Almeida, F., Pitondo-Silva, A., Oliveira, M. A., & Falcão, J. P. (2013). Molecular epidemiology and virulence markers of *Salmonella* Infantis isolated over 25 years in São Paulo State, Brazil. *Infection, Genetics and Evolution*, 19, 145–151. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2013.07.004>
- Álvarez-Ordóñez, A., Valdés, L., Bernardo, A., Prieto, M., & López, M. (2013). Survival of acid adapted and non-acid adapted *Salmonella* Typhimurium in pasteurized orange juice and yogurt under different storage temperatures. *Food Science and Technology International*, 19(5), 407–414. <https://doi.org/10.1177/1082013212455343>
- Anderson, M., Jaykus, L. A., Beaulieu, S., & Dennis, S. (2011). Pathogen-produce pair attribution risk ranking tool to prioritize fresh produce commodity and pathogen combinations for further evaluation (P3ARRT). *Food Control*, 22(12), 1865–1872. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.04.028>
- Andino, A., & Hanning, I. (2015). *Salmonella enterica*: survival, colonization, and virulence differences among serovars. *The Scientific World Journal*, 1–16. <https://doi.org/10.1155/2015/520179>
- Angelillo, I. F., Foresta, M. R., Scozzafava, C., & Pavia, M. (2001). Consumers and foodborne diseases: Knowledge, attitudes and reported behavior in one region of Italy. *International Journal of Food Microbiology*, 64(1–2), 161–166. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(00\)00451-7](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(00)00451-7)
- Ao, T. T., Feasey, N. A., Gordon, M. A., Keddy, K. H., Angulo, F. J., & Crump, J. A.

- (2015). Global burden of invasive nontyphoidal *Salmonella* disease, 20101. *Emerging Infectious Diseases*, 21(6), 941–949. <https://doi.org/10.3201/eid2106.140999>
- Aviles, B., Klotz, C., Smith, T., Williams, R., & Ponder, M. (2013). Survival of *Salmonella enterica* Serotype Tennessee during simulated gastric passage is improved by low water activity and high fat content. *Journal of Food Protection*, 76(2), 333–337. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-12-280>
- Bacon, R. T., Sofos, J. N., Kendall, P. A., Belk, K. E., & Smith, G. C. (2003). Comparative analysis of acid resistance between susceptible and multi-antimicrobial-resistant *Salmonella* strains cultured under stationary-phase acid tolerance-inducing and noninducing conditions. *Journal of Food Protection*, 66(5), 732–740. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-66.5.732>
- Balbuena-Alonso, M. (2019). *Repertorios genéticos de virulencia y multirresistencia a antibióticos de Salmonella entérica prevalentes en carne de pollo*. Universidad Autónoma de Querétaro.
- Barpalia-Davis, I. M., Geornaras, I., Kendall, P. A., & Sofos, J. N. (2008). Survival of *Listeria monocytogenes* in a simulated dynamic gastrointestinal model during storage of inoculated bologna and salami slices in vacuum packages. *Journal of Food Protection*, 71(10), 2014–2023. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-71.10.2014>
- Batz, M., Hoffmann, S., & Morris, J. G. (2012). Ranking the disease burden of 14 pathogens in food sources in the United States using attribution data from outbreak investigations and expert elicitation. *Journal of Food Protection*, 75(7), 1278–1291. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-11-418>
- Bautista-De León, H., Gómez-Aldapa, C. A., Rangel-Vargas, E., Vázquez-Barrios, E., & Castro-Rosas, J. (2013). Frequency of indicator bacteria, *Salmonella* and diarrhoeagenic *Escherichia coli* pathotypes on ready-to-eat cooked vegetable salads from Mexican restaurants. *Letters in Applied Microbiology*, 56(6), 414–420. <https://doi.org/10.1111/lam.12063>
- Beceiro, A., Tomás, M., & Bou, G. (2013). Antimicrobial resistance and virulence: A successful or deleterious association in the bacterial world? *Clinical*

- Microbiology Reviews*, 26(2), 185–230. <https://doi.org/10.1128/CMR.00059-12>
- Bellmann, S., Lelieveld, J., Gorissen, T., Minekus, M., & Havenaar, R. (2016). Development of an advanced in vitro model of the stomach and its evaluation versus human gastric physiology. *Food Research International*, 88, 191–198. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.01.030>
- Bemrah, N., Bergis, H., Colmin, C., Beaufort, A., Millemann, Y., Dufour, B., ... Sanaa, M. (2003). Quantitative risk assessment of human salmonellosis from the consumption of a turkey product in collective catering establishments. *International Journal of Food Microbiology*, 80(1), 17–30. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(02\)00145-9](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(02)00145-9)
- Ben Hassena, A., Haendiges, J., Zormati, S., Guermazi, S., Gdoura, R., Gonzalez-Escalona, N., & Siala, M. (2021). Virulence and resistance genes profiles and clonal relationships of non-typhoidal food-borne *Salmonella* strains isolated in Tunisia by whole genome sequencing. *International Journal of Food Microbiology*, 337, 108941. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108941>
- Berk, P. A., De Jonge, R., Zwietering, M. H., Abee, T., & Kieboom, J. (2005). Acid resistance variability among isolates of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium DT104. *Journal of Applied Microbiology*, 99(4), 859–866. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2005.02658.x>
- Bertranda, R. L. (2019). Lag phase is a dynamic, organized, adaptive, and evolvable period that prepares bacteria for cell division. *Journal of Bacteriology*, 201(7), 1–21. <https://doi.org/10.1128/JB.00697-18>
- Beshiru, A., Igbinosa, I. H., & Igbinosa, E. O. (2018). Biofilm formation and potential virulence factors of *Salmonella* strains isolated from ready-to-eat shrimps. *PLoS ONE*, 13(9), 1–22. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0204345>
- Beuchat, L. R., & Mann, D. A. (2014). Survival of *Salmonella* on dried fruits and in aqueous dried fruit homogenates as affected by temperature. *Journal of Food Protection*, 77(7), 1102–1109. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-13-549>
- Bhatta, D. R., Bangtrakulnonth, A., Tishyadhigama, P., Saroj, S. D., Bandekar, J. R., Hendriksen, R. S., & Kapadnis, B. P. (2007). Serotyping, PCR, phage-typing and antibiotic sensitivity testing of *Salmonella* serovars isolated from urban

- drinking water supply systems of Nepal. *Letters in Applied Microbiology*, 44(6), 588–594. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2007.02133.x>
- Bhowmick, P. P., Devegowda, D., Ruwandepika, H. A. D., Karunasagar, I., & Karunasagar, I. (2011). Presence of *Salmonella* pathogenicity island 2 genes in seafood-associated *Salmonella* serovars and the role of the *sseC* gene in survival of *Salmonella enterica* serovar Weltevreden in epithelial cells. *Microbiology*, 157(1), 160–168. <https://doi.org/10.1099/mic.0.043596-0>
- Bhunja, A. K. (2008). *Foodborne microbial pathogens: mechanisms and pathogenesis*. New York: Springer.
- Bohez, L., Ducatelle, R., Pasmans, F., Botteldoorn, N., Haesebrouck, F., & Van Immerseel, F. (2006). *Salmonella enterica* serovar Enteritidis colonization of the chicken caecum requires the HilA regulatory protein. *Veterinary Microbiology*, 116(1–3), 202–210. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2006.03.007>
- Bollaerts, K., Aerts, M., Faes, C., Grijspeerdt, K., Dewulf, J., & Mintiens, K. (2008). Human salmonellosis: estimation of dose-illness from outbreak data. *Risk Analysis*, 28(2), 427–440. <https://doi.org/10.1111/j.1539-6924.2008.01038.x>
- Borges, K. A., Furian, T. Q., Borsoi, A., Moraes, H. L. S., Salle, C. T. P., & Nascimento, V. P. (2013). Detection of virulence-associated genes in *Salmonella* Enteritidis isolates from chicken in South of Brazil. *Pesquisa Veterinaria Brasileira*, 33(12), 1416–1422. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2013001200004>
- Borriello, G., Lucibelli, M. G., Pesciaroli, M., Carullo, M. R., Graziani, C., Ammendola, S., ... Galiero, G. (2012). Diversity of *Salmonella* spp. serovars isolated from the intestines of water buffalo calves with gastroenteritis. *BMC Veterinary Research*, 8, 1–9. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-8-201>
- Bortolaia, V., Kaas, R. S., Ruppe, E., Roberts, M. C., Schwarz, S., Cattoir, V., ... Aarestrup, F. M. (2020). ResFinder 4.0 for predictions of phenotypes from genotypes. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 75(12), 3491–3500. <https://doi.org/10.1093/jac/dkaa345>
- Bouwknegt, M., Devleeschauwer, B., Graham, H., Robertson, L. J., & Giessen, J. W. B. Van Der. (2018). Prioritisation of food-borne parasites in Europe , 2016.

*Euro Surveillance*, 23(9), 1–11. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2018.23.9.17-00161>

- Bovill, R. A., Bew, J., & Baranyi, J. (2001). Measurements and predictions of growth for *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* during fluctuating temperature. II. Rapidly changing temperatures. *International Journal of Food Microbiology*, 67(1–2), 131–137. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(01\)00446-9](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(01)00446-9)
- Boyd, D., Cloeckert, A., Chaslus-Dancla, E., & Mulvey, M. R. (2002). Characterization of variant *Salmonella* genomic island 1 multidrug resistance regions from serovars typhimurium DT104 and agona. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 46(6), 1714–1722. <https://doi.org/10.1128/AAC.46.6.1714-1722.2002>
- Buchanan, R. L., Havelaar, A. H., Smith, M. A., Whiting, R. C., & Julien, E. (2009). The key events dose-response framework: Its potential for application to foodborne pathogenic microorganisms. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 49(8), 718–728. <https://doi.org/10.1080/10408390903116764>
- Bugarel, M., Granier, S. A., Weill, F.-X., Fach, P., & Brisabois, A. (2011). A multiplex real-time PCR assay targeting virulence and resistance genes in *Salmonella enterica* serotype Typhimurium. *BMC microbiology*, 11(1), 1-11. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-11-151>
- Busani, L., Cigliano, A., Taioli, E., Caligiuri, V., Chiavacci, L., Di Bella, C., ... Caprioli, A. (2005). Prevalence of *Salmonella enterica* and *Listeria monocytogenes* contamination in foods of animal origin in Italy. *Journal of Food Protection*, 68(8), 1729–1733. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-68.8.1729>
- Čabarkapa, I., Škrinjar, M., Lević, J., Kokić, B., Blagojev, N., Milanov, D., & Suvajdžić, L. (2015). Biofilm forming ability of *Salmonella* Enteritidis in vitro. *Acta Veterinaria*, 65(3), 371–389. <https://doi.org/10.1515/acve-2015-0031>
- Cabedo, L., Picart, I. B. L., & Teixid, I. C. A. (2008). Prevalence of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* in ready-to-eat food in Catalonia, Spain. *Journal of Food Protection*, 71(4), 855–859. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-71.4.855>
- Cabrera-Diaz, E., Barbosa-Cardenas, C. M., Perez-Montaño, J. A., Gonzalez-

- Aguilar, D., Pacheco-Gallardo, C., & Barba, J. (2013). Occurrence, serotype diversity, and antimicrobial resistance of *Salmonella* in ground beef at retail stores in Jalisco State, Mexico. *Journal of Food Protection*, 76(12), 2004–2010. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-13-109>
- Cahill, S. M., & Jouve, J. L. R. (2004). Microbiological risk assessment in developing countries. *Journal of Food Protection*, 67(9), 2016–2023. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-67.9.2016>
- Campioni, F., Pitondo-Silva, A., Bergamini, A. M. M., & Falcão, J. P. (2015). Comparison of four molecular methods to type *Salmonella* Enteritidis strains. *Apmis*, 123(5), 422–426. <https://doi.org/10.1111/apm.12367>
- Campos-Vega, R., Vázquez-Sánchez, K., López-Barrera, D., Loarca-Piña, G., Mendoza-Díaz, S., & Oomah, B. D. (2015). Simulated gastrointestinal digestion and in vitro colonic fermentation of spent coffee (*Coffea arabica* L.): Bioaccessibility and intestinal permeability. *Food Research International*, 77, 156–161. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.07.024>
- Cárdenas, C., Molina, K., Heredia, N., & García, S. (2013). Evaluation of microbial contamination of tomatoes and peppers at retail markets in Monterrey, Mexico. *Journal of Food Protection*, 76(8), 1475–1479. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-12-561>
- Carrasco, E., Morales-Rueda, A., & García-Gimeno, R. M. (2012). Cross-contamination and recontamination by *Salmonella* in foods: A review. *Food Research International*, 45(2), 545–556. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.11.004>
- Casalinuovo, F., Brindisi, D., Rippa, P., & Ceniti, C. (2018). Microbiological quality and safety of skipjack tuna loins (*Katsuwonus pelamis*) intended for canning. *Macedonian Veterinary Review*, 41(1), 33-37.
- Casas, P., Espinosa, N., Fernando, J., Zavala, V., Daniel, A., & Tolosa, N. (2005). Inocuidad bacteriológica en camarón para exportación en México. *Veterinaria México*, 36(4), 411-423.
- Castañeda, O., Rocha, J., & Ramos, M. (2008). Evaluación de los hábitos alimenticios y estado nutricional en adolescentes de Sonora, México. *Archivos*

*En Medicina Familiar*, 10(1), 7–11. Retrieved from <http://www.redalyc.org/pdf/507/50713090003.pdf>

Castela-Farias, A. (2015). *Evaluación de riesgo de la población a la exposición de Salmonella spp. y Shigella spp. por el consumo de hortalizas crudas*. Universidad Autónoma de Querétaro.

Castillo, A., Mercado, I., Lucia, L. M., Martínez-Ruiz, Y., Ponce De León, J., Murano, E. A., & Acuff, G. R. (2004). *Salmonella* contamination during production of cantaloupe: A binational study. *Journal of Food Protection*, 67(4), 713–720. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-67.4.713>

Castillo, A., Villarruel-López, A., Navarro-Hidalgo, V., Martínez-González, N. E., & Torres-Vitela., M. R. (2006). *Salmonella* and *Shigella* in freshly squeezed orange juice , fresh oranges , and wiping cloths collected from public markets and street booths in Guadalajara , Mexico: Incidence and comparison of analytical routes. *Journal of Food Protection*, 69(11), 2595–2599.

Castro-Rosas, J., Gómez-Aldapa, C. A., Acevedo-Sandoval, O. A., Ramirez, C. A. G., Villagomez-Ibarra, J. R., Hernández, N. C., ... Torres-Vitela., M. del R. (2011). Frequency and behavior of *Salmonella* and *Escherichia coli* on whole and sliced jalapeño and serrano peppers. *Journal of Food Protection*, 74(6), 874–881. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-10-398>

Castro-Rosas, J., López-Santos, E. M., Gómez-Aldapa, C. A., González-Ramírez, C. A., Villagomez-Ibarra, J. R., Gordillo-Martínez, A. J., ... Torres-Vitela, M. del R. (2010). Incidence and behavior of *Salmonella* and *Escherichia coli* on whole and sliced zucchini squash (*Cucurbita pepo*) Fruit. *Journal of Food Protection*, 73(8), 1423–1429. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-73.8.1423>

Casulli, K. E., Calhoun, S., & Schaffner, D. W. (2019). Modeling the risk of salmonellosis from consumption of peanuts in the United States. *Journal of Food Protection*, 82(4), 579–588. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-18-314>

Cates, S. C., Morales, R. a, Karns, S. a, Jaykus, L.-A., Kosa, K. M., Teneyck, T., ... Cowen, P. (2006). Consumer knowledge, storage, and handling practices regarding *Listeria* in frankfurters and deli meats: results of a Web-based

survey. *Journal of Food Protection*, 69(7), 1630–1639. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-69.7.1630>

Catford, A., Ganz, K., & Tamber, S. (2017). Enumerative analysis of *Salmonella* in outbreak-associated breaded and frozen comminuted raw chicken products. *Journal of Food Protection*, 80(5), 814–818. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-16-496>

CDC. (2016a). FOOD Tool. Retrieved February 27, 2018, from <https://wwwn.cdc.gov/foodborneoutbreaks/>

CDC. (2017a). FoodNet Fast. Retrieved April 2, 2018, from <https://wwwn.cdc.gov/foodnetfast/>

Cerna-Cortes, J. F., Gómez-Aldapa, C. A., Rangel-Vargas, E., Ramírez-Cruz, E., & Castro-Rosas, J. (2013). Presence of indicator bacteria, *Salmonella* and diarrheagenic *Escherichia coli* pathotypes on mung bean sprouts from public markets in Pachuca, Mexico. *Food Control*, 31(2), 280–283. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.10.010>

Chaffey, D. (2016). Global social media research summary 2016. *Social Media Marketing*, 1–13.

Charles-Hernández, G. L., Medina-Solís, C. E., & Hernández-Romano, J. (2007). Prevalencia de *Salmonella* sp en alimentos en el Estado de Tamaulipas durante el año 2005. *Rev. Invest. Clin.*, 59, 437–443.

Chekol, Y., & Ashenafi, M. (2009). Microbiological analysis and safety evaluation of various canned foods in Addis Ababa. *Ethiopian Journal of Biological Sciences*, 8(1), 53–69.

Chen, H. M., Wang, Y., Su, L. H., & Chiu, C. H. (2013). Nontyphoid *Salmonella* infection: Microbiology, clinical features, and antimicrobial therapy. *Pediatrics and Neonatology*, 54(3), 147–152. <https://doi.org/10.1016/j.pedneo.2013.01.010>

Chen, Y, Danyluk, M. D., & Schaffner, D. W. (2012). Microbial Quantitative Risk. In Y. Xianghe, V. K. Juneja, P. M. Fratamico, & J. L. Smith (Eds.), *Omics, Microbial Modeling and Technologies for Foodborne Pathogens* (p. 620). DEStech

Publications, Inc.

- Chiu, C. H., & Ou, J. T. (1996). Rapid identification of *Salmonella* serovars in feces by specific detection of virulence genes, *invA* and *spvC*, by an enrichment broth culture-multiplex PCR combination assay. *Journal of Clinical Microbiology*, 34(10), 2619–2622. <https://doi.org/10.1128/JCM.34.10.2619-2622.1996>
- Christieans, S., Picgirard, L., Parafita, E., Lebert, A., & Gregori, T. (2018). Impact of reducing nitrate/nitrite levels on the behavior of *Salmonella* Typhimurium and *Listeria monocytogenes* in French dry fermented sausages. *Meat Science*, 137(May 2017), 160–167. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.11.028>
- Cirone, K., Huberman, Y., Morsella, C., Méndez, L., Jorge, M., & Paolicchi, F. (2013). Growth of *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis, *Escherichia coli*, and *Salmonella* Enteritidis during Preparation and Storage of Yogurt. *ISRN Microbiology*, 2013, 1–7. <https://doi.org/10.1155/2013/247018>
- CLSI. (2010). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, twentieth informational supplement: *CLSI document M100-S20*, Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
- CLSI. (2017). Performance standards for antimicrobial susceptibility, twenty-seventh: *CLSI document M100-S20*, Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
- Cocolin, L., Mataragas, M., Bourdichon, F., Doulgeraki, A., Pilet, M. F., Jagadeesan, B., ... Phister, T. (2018). Next generation microbiological risk assessment meta-omics: The next need for integration. *International Journal of Food Microbiology*, 287(October 2017), 10–17. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.11.008>
- Cocolin, L., Membré, J. M., & Zwietering, M. (2018). Editorial: Integration of omics into MRA. *International Journal of Food Microbiology*, 287(October 2017), 1–2. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.11.006>
- Cody, M. M., & Hogue, M. A. (2003). Results of the home food safety - It's in your hands 2002 survey: Comparisons to the 1999 benchmark survey and healthy people 2010 food safety behaviors objective. *Journal of the American Dietetic Association*, 103(9), 1115–1125. [https://doi.org/10.1016/S0002-8223\(03\)01064-2](https://doi.org/10.1016/S0002-8223(03)01064-2)

- Collineau, L., Chapman, B., Bao, X., Sivapathasundaram, B., Carson, C. A., Fazil, A., ... Smith, B. A. (2020). A farm-to-fork quantitative risk assessment model for *Salmonella* Heidelberg resistant to third-generation cephalosporins in broiler chickens in Canada. *International Journal of Food Microbiology*, 330(April 2019), 108559. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108559>
- COMECARNE. (2018). Consejo Mexicano de la Carne. Retrieved September 18, 2018, from <http://comecarne.org/>
- COMEPESCA. (2018). Datos del Sector Pesquero Mexicano en 2018. Retrieved from <https://comepesca.com/campanas-de-promocion/>
- CONAGUA. (2020). Resúmenes Mensuales de Temperaturas y Lluvia. Retrieved from <https://smn.conagua.gob.mx/es/climatologia/temperaturas-y-lluvias/resumenes-mensuales-de-temperaturas-y-lluvias>
- Cook, A., Reid-Smith, R. J., Irwin, R. J., McEwen, S. A., Young, V., & Ribble, C. (2009). Antimicrobial resistance in *Campylobacter*, *Salmonella*, and *Escherichia coli* isolated from retail turkey meat from southern Ontario, Canada. *Journal of Food Protection*, 72(3), 473–481. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-10-483>
- Cunha, S., Komora, N., Magalhães, R., Almeida, G., Ferreira, V., & Teixeira, P. (2016). Characterization of clinical and food *Listeria monocytogenes* isolates with different antibiotic resistance patterns through simulated gastrointestinal tract conditions and environmental stresses. *Microbial Risk Analysis*, 1, 40–46. <https://doi.org/10.1016/j.mran.2015.08.001>
- D'Acunto, B., Frunzo, L., Klapper, I., Mattei, M. R., & Stoodley, P. (2019). Mathematical modeling of dispersal phenomenon in biofilms. *Mathematical Biosciences*, 307(July 2018), 70–87. <https://doi.org/10.1016/j.mbs.2018.07.009>
- Da Silva Felício, M. T., Hald, T., Liebana, E., Allende, A., Hugas, M., Nguyen-The, C., ... McLauchlin, J. (2015). Risk ranking of pathogens in ready-to-eat unprocessed foods of non-animal origin (FoNAO) in the EU: Initial evaluation using outbreak data (2007-2011). *International Journal of Food Microbiology*, 195, 9–19. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.11.005>
- Dang-Xuan, S., Nguyen-Viet, H., Unger, F., Pham-Duc, P., Grace, D., Tran-Thi, N.,

- ... Makita, K. (2017). Quantitative risk assessment of human salmonellosis in the smallholder pig value chains in urban of Vietnam. *International Journal of Public Health*, 62, 93–102. <https://doi.org/10.1007/s00038-016-0921-x>
- Darwin, K. H., & Miller, V. L. (1999). Molecular basis of the interaction of *Salmonella* with the intestinal mucosa. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(3), 405–428. <https://doi.org/file:///Z:\References\Text Files\00000004515.txt>
- Deekshit, V. K., Kumar, B. K., Rai, P., Rohit, A., & Karunasagar, I. (2013). Simultaneous detection of *Salmonella* pathogenicity island 2 and its antibiotic resistance genes from seafood. *Journal of Microbiological Methods*, 93(3), 233–238. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2013.03.015>
- Delbeke, S., Ceuppens, S., Jacxsens, L., & Uyttendaele, M. (2015). Survival of *Salmonella* and *Escherichia coli* O157:H7 on Strawberries, Basil, and Other Leafy Greens during Storage. *Journal of Food Protection*, 78(4), 652–660. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-14-354>
- den Besten, H. M. W., Amézquita, A., Bover-Cid, S., Dagnas, S., Ellouze, M., Guillou, S., ... Membré, J. M. (2018). Next generation of microbiological risk assessment: Potential of omics data for exposure assessment. *International Journal of Food Microbiology*, 287(October 2017), 18–27. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.10.006>
- DGE. (2017). Anuario 1984-2016. Retrieved February 27, 2018, from <http://187.191.75.115/anuario/html/anuarios.html>
- DGE. (2021). Anuario de Morbilidad 1984 -2019. Retrieved April 2, 2021, from <https://epidemiologia.salud.gob.mx/anuario/html/anuarios.html>
- Diaz De Aguayo, M. E., Leon Duarte, A. B., & Montes De Oca Canastillo, F. (1992). Incidence of multiple antibiotic resistant organisms isolated from retail milk products in Hermosillo, Mexico. *Journal of Food Protection*, 55(5), 370–373. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-55.5.370>
- Díez-García, M., Capita, R., & Alonso-Calleja, C. (2012). Influence of serotype on the growth kinetics and the ability to form biofilms of *Salmonella* isolates from poultry. *Food Microbiology*, 31(2), 173–180. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2012.03.012>

- Dixit, P., Jain, D. K., & Dumbwani, J. (2012). Standardization of an *ex vivo* method for determination of intestinal permeability of drugs using everted rat intestine apparatus. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 65(1), 13–17. <https://doi.org/10.1016/j.vascn.2011.11.001>
- DOF. (1997). NOM-040-ZOO-1995. Norma oficial mexicana, especificaciones para la comercialización de sales Puras antimicrobianas para uso en animales o consumo por estos. Retrieved from <http://publico.senasica.gob.mx/?doc=516>
- Dominguez, S. A., & Schaffner, D. W. (2008). Modeling the growth of *Salmonella* in raw poultry stored under aerobic conditions. *Journal of Food Protection*, 71(12), 2429–2435. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-71.12.2429>
- Dookeran, M. (2012). Assessing thermal inactivation of *Salmonella* on cooked broiler chicken carcasses in Trinidad and Tobago. *The Open Conference Proceedings Journal*, 3(1), 12–19. <https://doi.org/10.2174/2210289201203020012>
- Doublet, B., Boyd, D., Mulvey, M. R., & Cloeckert, A. (2005). The *Salmonella* genomic island 1 is an integrative mobilizable element. *Molecular Microbiology*, 55(6), 1911–1924. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2005.04520.x>
- Doyle, M. E. (2015). Multidrug-resistant pathogens in the food supply. *Foodborne Pathogens and Disease*, 12(4), 261–279. <https://doi.org/10.1089/fpd.2014.1865>
- Duggan, M., & Brenner, J. (2013). The demographics of social media users-2012. *Washington, DC: Pew Research Center's Internet & American Life Project*, 2013, 1–14. Retrieved from <http://pewinternet.org/Reports/2013/Social-media-users.aspx> FOR
- Duong, V. T., Nhu, T. D. H., Tuyen, H. T., Campbell, J. I., Van Minh, P., Le Phuc, H., & Baker, S. (2020). Genomic serotyping, clinical manifestations, and antimicrobial resistance of nontyphoidal *Salmonella* gastroenteritis in hospitalized children in Ho Chi Minh City, Vietnam. *Journal of Clinical Microbiology*, 58(12), 1–15.
- Eblen, B. S., Walderhaug, M. O., Edelson-mammel, S., Chirtel, S. J., Jesus, A. D. E., Merker, R. I., ... Miller, A. J. (2004). Potential for internalization, growth, and survival of *Salmonella* and *Escherichia coli* O157 : H7 in oranges. *Journal of Food Protection*, 67(8), 1578–1584.

<https://doi.org/https://doi.org/10.4315/0362-028X-67.8.1578>

EcoSure. (2008). 2007 U.S Cold Temperature Evaluation Design and Summary Pages. *EcoSure*, 1-10.

EFSA. (2012). Scientific Opinion on the development of a risk ranking framework on biological hazards. *EFSA Journal*, 10(6).  
<https://doi.org/10.2903/j.efsa.2012.2724>

EFSA. (2013). Scientific Opinion on the risk posed by pathogens in food of non-animal origin. Part 1 (outbreak data analysis and risk ranking of food/pathogen Combinations). *EFSA Journal*, 11(1), 3025.  
<https://doi.org/10.2903/j.efsa.2013.3025>

EFSA Panel, Koutsoumanis, K., Allende, A., Alvarez-Ordóñez, A., Bolton, D., Bover-Cid, S., ... Davies, R. (2019). *Salmonella* control in poultry flocks and its public health impact. *EFSA Journal*, 17(2). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2019.5596>

Elemfareji, O. I., & Thong, K. L. (2013). Comparative virulotyping of *Salmonella* Typhi and *Salmonella* Enteritidis. *Indian Journal of Microbiology*, 53(4), 410–417.  
<https://doi.org/10.1007/s12088-013-0407-y>

Escartin, E. F., Castillo, A., Hinojosa-Puga, A., & Saldaña-Lozano, J. (1999). Prevalence of *Salmonella* in chorizo and its survival under different storage temperatures. *Food Microbiology*, 16(5), 479–486.  
<https://doi.org/10.1006/fmic.1999.0258>

Estrella-Gómez, N., Escalante-Réndiz, D., González-Burgos, A., Sosa-Cordero, D., & Rojas-Herrera, R. (2016). Análisis microbiológico del pulpo rojo en puertos pesqueros de Campeche , México. *Salud Publica Mex*, 58(4), 453–460.

Espinoza, R. A., Silva-Valenzuela, C. A., Amaya, F. A., Urrutia, Ítalo M., Contreras, I., & Santiviago, C. A. (2017). Differential roles for pathogenicity islands SPI-13 and SPI-8 in the interaction of *Salmonella* Enteritidis and *Salmonella* Typhi with murine and human macrophages. *Biological Research*, 50(1), 1–7.  
<https://doi.org/10.1186/s40659-017-0109-8>

Evans, E. W., & Redmond, E. C. (2015). Analysis of older adults' domestic kitchen storage practices in the United Kingdom: Identification of Risk Factors Associated with Listeriosis. *Journal of Food Protection*, 78(4), 738–745.

<https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-14-527>

Evans, E. W., & Redmond, E. C. (2016). Older adult consumer knowledge, attitudes, and self-reported storage practices of ready-to-eat food products and risks associated with listeriosis. *Journal of Food Protection*, 79(2), 263–272.

<https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-15-312>

Fang, T., Huang, L., Liu, L., Mei, F., & Chen, J. (2015). Mathematical modeling of growth of *Salmonella* spp. and spoilage microorganisms in raw oysters. *Food Control*, 53, 140–146. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.12.036>

FAO/WHO. (2002). *Risk assessments of Salmonella in eggs and broiler chickens* (Vol 2). Rome, Italy: FAO/WHO.

FAO/WHO. (2003). *Hazard characterization for pathogens in food and water* (Vol 3). Rome, Italy: FAO/WHO.

FAO/WHO. (2009). *Codex Alimentarius: Food hygiene Basic texts* (Fourth). Rome, Italy: FAO/WHO.

FAO/WHO. (2014). *Multicriteria-Based Ranking for Risk Management of Food-Borne Parasites*. Rome, Italy: FAO/WHO.

FAO. (2017). *Food safety risk management: Evidence-informed policies and decisions, considering multiple factors*. Rome, Italy: FAO

FAO. (2020). *FAO Guide to Ranking Food Safety Risks at the National Level*. Rome, Italy: FAO

Faour-Klingbeil, D., Kuri, V., & Todd, E. (2016). The transfer rate of *Salmonella* Typhimurium from contaminated parsley to other consecutively chopped batches via cutting boards under different food handling scenarios. *Food Research International*, 89, 495–503. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.09.001>

Farahnaz, G.-M., Reza Housaindokht, M., Mohsenzadeh, M., & Varidi, M. (2016). Microbial and chemical spoilage of chicken meat during storage at isothermal and fluctuation temperature under aerobic conditions. *Iranian Journal of Veterinary Science and Technology*, 8(1), 38–46. <https://doi.org/10.22067/veterinary.v8i1.54563>

Farakos, S. S. M., Pouillot, R., Davidson, G. R., Johnson, R., Son, I., Anderson, N.,

- & VAN DOREN, J. M. (2019). A quantitative risk assessment of human salmonellosis from consumption of walnuts in the United States. *Journal of Food Protection*, 82(1), 45–57. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-18-233>
- Farakos, S. S. M., Pouillot, R., Davidson, G. R., Johnson, R., Spungen, J., Son, I., ... Van Doren, J. M. (2018). A quantitative risk assessment of human salmonellosis from consumption of pistachios in the United States. *Journal of Food Protection*, 81(6), 1001–1014. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-17-379>
- Farakos, S. S. M., Pouillot, R., Johnson, R., Spungen, J., Son, I., Anderson, N., & Van Doren, J. M. (2017). A quantitative assessment of the risk of human salmonellosis arising from the consumption of almonds in the United States: The impact of preventive treatment levels. *Journal of Food Protection*, 80(5), 863–878. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-16-403>
- Faura, C.-A., Angulo, E. L. A., Masdeu, L. M., Estebán, M. A. M., Ordóñez, G. O., Musarra, F. P., & Zekaria, D. (2002). *La Salmonella, de actualidad desde siempre*.
- Fazil, A., Rajic, A., Sanchez, J., & McEwen, S. (2008). Choices, choices: The application of multi-criteria decision analysis to a food safety decision-making problem. *Journal of Food Protection*, 71(11), 2323–2333. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-71.11.2323>
- FDA/USDA. (2003). *Quantitative assessment of relative risk to public health from foodborne Listeria monocytogenes among selected categories of ready-to-eat foods*: FDA/USA.
- FDA. (2001). *Chapter 3 . Factors that influence microbial growth*. 1–36. Retrived August 12, 2018 , from <https://www.canr.msu.edu/resources/chapter-3-factors-that-influence-microbial-growth>
- FDA. (2012). *Bad bug book handbook of foodborne pathogenic microorganisms and natural toxins*. Retrieved May 1, 2019, from <https://www.fda.gov/downloads/food/foodsafety/foodborneillness/foodborneillnessfoodbornepathogensnaturaltoxins/badbugbook/ucm297627.pdf>
- FDA. (2016). Outbreaks - FDA investigated multistate outbreak of *Salmonella* Poona

linked to cucumbers. Retrieved April 13, 2018, from <http://wayback.archive-it.org/7993/20171114154900/https://www.fda.gov/Food/RecallsOutbreaksEmergencies/Outbreaks/ucm461317.htm>

FDA. (2017). Outbreaks - FDA investigates multiple *Salmonella* outbreak strains linked to papayas. Retrieved April 13, 2018, from <https://www.fda.gov/Food/RecallsOutbreaksEmergencies/Outbreaks/ucm568097.htm>

FDA. (2018). Bacteriological analytical manual (BAM) Chapter 5: *Salmonella*. Retrieved August 12, 2017, from <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bacteriological-analytical-manual-bam-chapter-5-salmonella>

Fein, S. B., Lin, C.-T. J., & Levy, A. S. (1995). Foodborne illness: perceptions, experience, and preventive behaviors in the United States. *Journal of Food Protection*, 58(12), 1405–1411. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-58.12.1405>

Fernández, E. E. (2008). *Microbiología e Inocuidad de Alimentos*. Querétaro, México: Universidad Autónoma de Querétaro.

Ferreira de Melo, A. N., Souza, G. T. de, Schaffner, D., Oliveira, T. C. M. de, Maciel, J. F., Souza, E. L. de, & Magnani, M. (2017). Changes in thermo-tolerance and survival under simulated gastrointestinal conditions of *Salmonella* Enteritidis PT4 and *Salmonella* Typhimurium PT4 in chicken breast meat after exposure to sequential stresses. *International Journal of Food Microbiology*, 251, 15–23. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.03.022>

Figuroa Ochoa, I. M., & Verdugo Rodríguez, A. (2005). Mecanismos moleculares de patogenicidad de *Salmonella* sp. *Revista Latinoamericana de Microbiología*, 47(1–2), 25–42. <https://doi.org/10.1107/S1744309108039882>

Forsythe, S. J. (2002). The Microbiological Risk Assessment of Food. In *Blackwell Science Ltd* (Vol. 1). <https://doi.org/10.1002/9780470995150>

Foster, J. W. (1995). Low pH adaptation and the acid tolerance response of salmonella typhimurium. *Critical Reviews in Microbiology*, 21(4), 215–237. <https://doi.org/10.3109/10408419509113541>

Fritsch, L., Guillier, L., & Augustin, J. C. (2018). Next generation quantitative microbiological risk assessment: Refinement of the cold smoked salmon-related

- listeriosis risk model by integrating genomic data. *Microbial Risk Analysis*, (May), 0–1. <https://doi.org/10.1016/j.mran.2018.06.003>
- Garayoa, R., Córdoba, M., García-Jalón, I., Sanchez-Villegas, A., & Vitas, A. I. (2005). Relationship between consumer food safety knowledge and reported behavior among students from health sciences in one region of Spain. *Journal of Food Protection*, 68(12), 2631–2636. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-68.12.2631>
- Gardner, J. D., Ciociola, A. A., & Robinson, M. (2002). Measurement of meal-stimulated gastric acid secretion by in vivo gastric autotitration. *Journal of Applied Physiology*, 92, 427–434. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00119.2002>
- Gebreyes, W. A., Wittum, T., Habing, G., Alali, W., Usui, M., & Suzuki, S. (2017). Spread of antibiotic resistance in food animal production systems. In *Foodborne Diseases: Third Edition* (Third Edit). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385007-2.00004-8>
- Geeraerd, A. H., Valdramidis, V. P., & Van Impe, J. F. (2005). GlnaFIT, a freeware tool to assess non-log-linear microbial survivor curves. *International Journal of Food Microbiology*, 102(1), 95–105. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.11.038>
- Gerlach, R. G., & Hensel, M. (2007). *Salmonella* pathogenicity islands in host specificity, host pathogen-interactions and antibiotics resistance of *Salmonella enterica*. *Berliner Und Munchener Tierarztliche Wochenschrift*, 120(7–8), 317–327. <https://doi.org/10.2376/0005-9366-120-317>
- Ghaderi, R., Tadayon, K., Khaki, P., & Mosavari, N. (2015). Iranian clonal population of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis, characterized by multi-locus sequence typing (MLST) method. *Iranian Journal of Microbiology*, 7(5), 251–259.
- Ghoddusi, A., Nayeri Fasaei, B., Zahraei Salehi, T., & Akbarein, H. (2019). Prevalence and characterization of multidrug resistance and variant *Salmonella* genomic island 1 in *Salmonella* isolates from cattle, poultry and humans in Iran. *Zoonoses and Public Health*, 66(6), 587–596. <https://doi.org/10.1111/zph.12608>

- Giacometti, F., Bonilauri, P., Albonetti, S., Amatiste, S., Arrigoni, N., Bianchi, M., ... Serraino, A. (2015). Quantitative risk assessment of human salmonellosis and listeriosis related to the consumption of raw milk in Italy. *Journal of Food Protection*, 78(1), 13–21. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-14-171>
- Giraud, E., Cloeckaert, A., Baucheron, S., Mouline, C., & Chaslus-Dancla, E. (2003). Fitness cost of fluoroquinolone resistance in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *Journal of Medical Microbiology*, 52(8), 697–703. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.05178-0>
- Gkana, E., Lianou, A., & Nychas, G. J. E. (2016). Transfer of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium from beef to tomato through kitchen equipment and the efficacy of intermediate decontamination procedures. *Journal of Food Protection*, 79(7), 1252–1258. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-15-531>
- Godínez-Oviedo, A., Sampedro Parra, F., Machuca Vergara, J. J., Gutiérrez González, P., & Hernández Iturriaga, M. (2019). Food consumer behavior and *Salmonella* exposure self-perception in the central region of Mexico. *Journal of Food Science*, 84(10), 2907–2915. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14792>
- Godínez-Oviedo, A., Tamplin, M. L., Bowman, J. L., & Hernández-Iturriaga, M. (2019). *Salmonella enterica* in Mexico 2000-2017: epidemiology, antimicrobial resistance, and prevalence in food. *Foodborne Pathogens and Disease*, 17(2), 98–118. <https://doi.org/10.1089/fpd.2019.2627>
- Gómez-Aldapa, C. A., Rangel-Vargas, E., & Castro-Rosas, J. (2013). Frequency and correlation of some enteric indicator bacteria and *Salmonella* in ready-to-eat raw vegetable salads from Mexican restaurants. *Journal of Food Science*, 78(8), 1201–1207. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12182>
- Gómez-Aldapa, C. A., Rangel-Vargas, E., Bautista-De León, H., & Castro-Rosas, J. (2014). Presence of non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli*, enterotoxigenic *E. coli*, enteropathogenic *E. coli* and *Salmonella* in fresh beetroot (*Beta vulgaris* L.) juice from public markets in Mexico. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94(13), 2705–2711. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6614>
- González, J. F., Alberts, H., Lee, J., Doolittle, L., & Gunn, J. S. (2018). Biofilm

- formation protects *Salmonella* from the antibiotic ciprofloxacin *in vitro* and *in vivo* in the mouse model of chronic carriage. *Scientific Reports*, 8(1), 1–8. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-18516-2>
- Gordon, M. A., Graham, S. M., Walsh, A. L., Wilson, L., Phiri, A., Molyneux, E., ... Molyneux, M. E. (2008). Epidemics of invasive *Salmonella enterica* serovar Enteritidis and *S. enterica* serovar Typhimurium infection associated with multidrug resistance among adults and children in Malawi. *Clinical Infectious Diseases*, 46(7), 963–969. <https://doi.org/10.1086/529146>
- Graça, A., Santo, D., Quintas, C., & Nunes, C. (2017). Growth of *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* and *Listeria* spp., and their inactivation using ultraviolet energy and electrolyzed water, on 'Rocha' fresh-cut pears. *Food Control*, 77, 41–49. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.01.017>
- Gradl, D. R., Sun, L., Larkin, E. L., Chirtel, S. J., & Keller, S. E. (2015). Survival of *Salmonella* during drying of fresh ginger root (*Zingiber officinale*) and storage of ground ginger. *Journal of Food Protection*, 78(11), 1954–1959. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-15-153>
- Graziani, C., Busani, L., Dionisi, A. M., Caprioli, A., Ivarsson, S., Hedenström, I., & Luzzi, I. (2011). Virulotyping of *Salmonella enterica* serovar Napoli strains isolated in Italy from human and nonhuman sources. *Foodborne Pathogens and Disease*, 8(9), 997–1003. <https://doi.org/10.1089/fpd.2010.0833>
- Griffiths, M. (2005). Understanding pathogen Virulence , stress response and. In *New York*.
- Guibourdenche, M., Roggentin, P., Mikoleit, M., Fields, P. I., Bockemühl, J., Grimont, P. A. D., & Weill, F. X. (2010). Supplement 2003-2007 (No. 47) to the White-Kauffmann-Le Minor scheme. *Research in Microbiology*, 161(1), 26–29. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2009.10.002>
- Guiney, D. G. (1997). Regulation of bacterial virulence gene expression by the host environment. *The Journal of Clinical Investigation*, 99(4), 565–569. <https://doi.org/10.1172/JCI119196>
- Guo, B., Abdelraouf, K., Ledesma, K. R., Nikolaou, M., & Tam, V. H. (2012). Predicting bacterial fitness cost associated with drug resistance. *Journal of*

*Antimicrobial Chemotherapy*, 67(4), 928–932.  
<https://doi.org/10.1093/jac/dkr560>

Gupta, A., Fontana, J., Crowe, C., Bolstorff, B., Stout, A., Duyne, S. V., ... Angulo, F. J. (2003). Emergence of multidrug-resistant *Salmonella enterica* serotype Newport infections resistant to expanded-spectrum cephalosporins in the United States. *The Journal of Infectious Diseases*, 188(11), 1707–1716.  
<https://doi.org/10.1086/379668>

Gurman, P. M., Ross, T., & Kiermeier, A. (2018). Quantitative microbial risk assessment of salmonellosis from the consumption of Australian pork: minced meat from retail to burgers prepared and consumed at home. *Risk Analysis*, 38(12), 2625–2645. <https://doi.org/10.1111/risa.13163>

Gut, A. M., Vasiljevic, T., Yeager, T., & Donkor, O. N. (2018). *Salmonella* infection – Prevention and treatment by antibiotics and probiotic yeasts: A review. *Microbiology*, 164(11), 1327–1344. <https://doi.org/10.1099/mic.0.000709>

Gutiérrez-Cogco, L., Montiel-Vázquez, E., Aguilera-Pérez, P., & González-Andrade, M. del C. (2000). Serotipos de *Salmonella* identificados en los servicios de salud de México. *Salud Publica Mex*, 42(6).

Haddad, N., Johnson, N., Kathariou, S., Métris, A., Phister, T., Pielaat, A., ... Zwietering, M. H. (2018). Next generation microbiological risk assessment— Potential of omics data for hazard characterisation. *International Journal of Food Microbiology*, 287(March), 28–39.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.04.015>

Haeusler, G. M., & Curtis, N. (2013). Non-typhoidal *Salmonella* in children: Microbiology, epidemiology and treatment. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 764, 13–26. [https://doi.org/10.1007/978-1-4614-4726-9\\_2](https://doi.org/10.1007/978-1-4614-4726-9_2)

Hall, G. V., Kirk, M. D., Ashbolt, R., Stafford, R., Lalor, K., Bell, R., ... Williams, J. (2006). Frequency of infectious gastrointestinal illness in Australia, 2002: Regional, seasonal and demographic variation. *Epidemiology and Infection*, 134(1), 111–118. <https://doi.org/10.1017/S0950268805004656>

Haraga, A., Ohlson, M. B., & Miller, S. I. (2008). *Salmonellae* interplay with host cells. *Nature Reviews Microbiology*, 6(1), 53–66. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1788>

- Havelaar, A H, Garssen, J., Takumi, K., Koedam, M. A., & Dufrenne, J. B. (2001). A rat model for dose response relationships of *Salmonella* Enteritidis infection. *Society*, 442–452.
- Havelaar, Arie H., van Rosse, F., Bucura, C., Toetenel, M. A., Haagsma, J. A., Kurowicka, D., ... Braks, M. A. H. (2010). Prioritizing emerging zoonoses in the Netherlands. *PLoS ONE*, 5(11). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0013965>
- Helms, M., Ethelberg, S., Mølbak, K., & Group, D. S. (2005). Typhimurium DT104 Infections, 1992–2001. *Emerging Infectious Diseases*, 11(6), 859–867.
- Herhaus, L., & Dikic, I. (2017). Regulation of *Salmonella*-host cell interactions via the ubiquitin system. *International Journal of Medical Microbiology*, 308(1), 176–184. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2017.11.003>
- Hernández, S. B., Cota, I., Ducret, A., Aussel, L., & Casadesús, J. (2012). Adaptation and preadaptation of *Salmonella enterica* to bile. *PLoS Genetics*, 8(1). <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1002459>
- Herrero, A., Rodicio, M. R., González-Hevia, M. A., & Mendoza, M. C. (2006). Molecular epidemiology of emergent multidrug-resistant *Salmonella enterica* serotype Typhimurium strains carrying the virulence resistance plasmid pUO-StVR2. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 57(1), 39–45. <https://doi.org/10.1093/jac/dki400>
- Hew, C. M., Hajmeer, M. N., Farver, T. B., Glover, J. M., & Cliver, D. O. (2005). Survival of *Salmonella* and *Escherichia coli* O157 : H7 in chorizos. *J. Food Protect.*, 68(10), 2039–2046. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-68.10.2039>.
- Hillers, V. N., Medeiros, L., Kendall, P., Chen, G., & DiMascola, S. (2003). Consumer food-handling behaviors associated with prevention of 13 foodborne illnesses. *Journal of Food Protection*, 66(10), 1893–1899. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-66.10.1893>
- Hopkins, K. L., & Threlfall, E. J. (2004). Frequency and polymorphism of *sopE* in isolates of *Salmonella enterica* belonging to the ten most prevalent serotypes in England and Wales. *Journal of Medical Microbiology*, 53(6), 539–543. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.05510-0>
- Horn, N., & Bhunia, A. K. (2018). Food-associated stress primes foodborne

- pathogens for the gastrointestinal phase of infection. *Frontiers in Microbiology*, 9(AUG), 1–16. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01962>
- Howard, G., Pedley, S., & Tibatemwa, S. (2006). Quantitative microbial risk assessment to estimate health risks attributable to water supply: Can the technique be applied in developing countries with limited data? *Journal of Water and Health*, 4(1), 49–65. <https://doi.org/10.2166/wh.2006.0004>
- Huehn, S., La Ragione, R. M., Anjum, M., Saunders, M., Woodward, M. J., Bunge, C., ... Malorny, B. (2010). Virulotyping and antimicrobial resistance typing of *Salmonella enterica* serovars relevant to human health in Europe. *Foodborne Pathogens and Disease*, 7(5), 523–535. <https://doi.org/10.1089/fpd.2009.0447>
- Hughes, L. A., Shopland, S., Wigley, P., Bradon, H., Leatherbarrow, A. H., Williams, N. J., ... Chantrey, J. (2008). Characterisation of *Salmonella enterica* serotype Typhimurium isolates from wild birds in northern England from 2005 – 2006. *BMC Veterinary Research*, 4(1), 4. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-4-4>
- Humphrey, T. (2004). *Salmonella*, stress responses and food safety. *Nature Reviews Microbiology*, 2(6), 504–509. <https://doi.org/10.1038/nrmicro907>
- Hur, J., Kim, J. H., Park, J. H., Lee, Y. J., & Lee, J. H. (2011). Molecular and virulence characteristics of multi-drug resistant *Salmonella* Enteritidis strains isolated from poultry. *Veterinary Journal*, 189(3), 306–311. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2010.07.017>
- Hwang, C.A., Sheen, S., & Juneja, V. (2011). Effects of sodium lactate on the survival of *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7, and *Salmonella* spp. in cooked ham at refrigerated and abuse temperatures. *Food and Nutrition Sciences*, 02(05), 464–470. <https://doi.org/10.4236/fns.2011.25066>
- INEGI. (2018). Regiones Socioeconómicas de México. Retrieved August 21, 2018, from <http://sc.inegi.gob.mx/niveles/index.jsp>
- INEGI. (2020). Población total por entidad federativa y grupo quinquenal de edad según sexo, 1990 a 2020. Retrieved from [https://www.inegi.org.mx/app/tabulados/interactivos/?pxq=Poblacion\\_Poblacion\\_01\\_e60cd8cf-927f-4b94-823e-972457a12d4b](https://www.inegi.org.mx/app/tabulados/interactivos/?pxq=Poblacion_Poblacion_01_e60cd8cf-927f-4b94-823e-972457a12d4b)
- Ingham, S. C., Fanslau, M. A., Burnham, G. M., Ingham, B. H., Norback, J. P., &

- Schaffner, D. W. (2007). Predicting pathogen growth during short-term temperature abuse of raw pork, beef, and poultry products: Use of an isothermal-based predictive tool. *Journal of Food Protection*, 70(6), 1446–1456. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-70.6.1446>
- Islam, M., Morgan, J., Doyle, M. P., Phatak, S. C., Millner, P., & Jiang, X. (2004). Fate of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium on carrots and radishes grown in fields treated with contaminated manure composts or irrigation water. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(4), 2497–2502. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.4.2497-2502.2004>
- Jarvis, B. (2007). On the compositing of samples for qualitative microbiological testing. *Letters in Applied Microbiology*, 45(6), 592–598. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2007.02237.x>
- Jeong, J., Chon, J. W., Kim, H., Song, K. Y., & Seo, K. H. (2018). Risk assessment for salmonellosis in chicken in South Korea: The effect of *Salmonella* concentration in chicken at retail. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 38(5), 1043–1054. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2018.e37>
- Jessen, B., & Lammert, L. (2003). Biofilm and disinfection in meat processing plants. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 51(4), 265–269. [https://doi.org/10.1016/S0964-8305\(03\)00046-5](https://doi.org/10.1016/S0964-8305(03)00046-5)
- Julien, E., Boobis, A. R., & Olin, S. S. (2009). The key events dose-response framework: A cross-disciplinary mode-of-action based approach to examining dose-response and thresholds. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 49(8), 682–689. <https://doi.org/10.1080/10408390903110692>
- Juneja, V. K., Marks, H. M., & Huang, L. (2003). Growth and heat resistance kinetic variation among various isolates of *Salmonella* and its application to risk assessment. *Risk Analysis*, 23(1), 199–213. <https://doi.org/10.1111/1539-6924.00300>
- Juneja, V. K., Melendres, M. V., Huang, L., Subbiah, J., & Thippareddi, H. (2009). Mathematical modeling of growth of *Salmonella* in raw ground beef under isothermal conditions from 10 to 45 °C. *International Journal of Food Microbiology*, 131(2–3), 106–111.

<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.01.034>

Juneja, V. K., Valenzuela Melendres, M., Huang, L., Gumudavelli, V., Subbiah, J., & Thippareddi, H. (2007). Modeling the effect of temperature on growth of *Salmonella* in chicken. *Food Microbiology*, 24(4), 328–335.

<https://doi.org/10.1016/j.fm.2006.08.004>

Jung, J. (2018). *Understanding and managing the risk from Salmonella on cucumbers*. Rutgers University.

Kanki, M., Sakata, J., Taguchi, M., Kumeda, Y., Ishibashi, M., Kawai, T., ... Miyahara, M. (2009). Effect of sample preparation and bacterial concentration on *Salmonella enterica* detection in poultry meat using culture methods and PCR assaying of preenrichment broths. *Food Microbiology*, 26(1), 1–3.

<https://doi.org/10.1016/j.fm.2008.07.010>

Kaplan, J. B. (2010). Biofilm Dispersal: Mechanisms, Clinical Implications, and Potential Therapeutic Uses. *Journal of Dental Research*, 89(3), 205–218.

<https://doi.org/10.1177/0022034509359403>

Kariuki, S., Gordon, M. A., Feasey, N., & Parry, C. M. (2015). Antimicrobial resistance and management of invasive *Salmonella* disease. *Vaccine*, 33(S3), C21–C29. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2015.03.102>

Kasuga, F., Hirota, M., Wada, M., Yunokawa, T., Toyofuku, H., Shibatsuji, M., ... Kumagai, S. (2004). Archiving of food samples from restaurants and caterers--quantitative profiling of outbreaks of foodborne salmonellosis in Japan. *Journal of Food Protection*, 67(9), 2024–2032. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-67.9.2024>

Kaur, J., & Jain, S. K. (2012). Role of antigens and virulence factors of *Salmonella enterica* serovar Typhi in its pathogenesis. *Microbiological Research*, 167(4), 199–210. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2011.08.001>

Kegode, R. B., Doetkott, D. K., Khaitisa, M. L., & Wesley, I. V. (2008). Occurrence of *Campylobacter* species, *Salmonella* species and generic *Escherichia coli* in meat products from retail outlets in the Fargo metropolitan area. *Journal of Food Safety*, 28(1), 111–125. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4565.2007.00099.x>

Kenney, S. J., & Beuchat, L. R. (2002). Survival of *Escherichia coli* O157:H7 and

Salmonella Muenchen on apples as affected by application of commercial fruit waxes. *International Journal of Food Microbiology*, 77(3), 223–231. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(02\)00113-7](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(02)00113-7)

Khaita, M. L., Kegode, R. B., & Doetkott, D. K. (2007). Occurrence of antimicrobial-resistant *Salmonella* species in raw and ready to eat turkey meat products from retail outlets in the midwestern United States. *Foodborne Pathogens and Disease*, 4(4), 517–525. <https://doi.org/10.1089/fpd.2007.0010>

Khalid, T., Hdaifeh, A., Federighi, M., Cummins, E., Boué, G., Guillou, S., & Tesson, V. (2020). Review of quantitative microbial risk assessment in poultry meat: The central position of consumer behavior. *Foods*, 9(11), 1661. <https://doi.org/10.3390/foods9111661>

Khoo, C. H., Cheah, Y. K., Lee, L. H., Sim, J. H., Salleh, N. A., Sidik, S. M., ... Sukardi, S. (2009). Virulotyping of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* isolated from indigenous vegetables and poultry meat in Malaysia using multiplex-PCR. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*, 96(4), 441–457. <https://doi.org/10.1007/s10482-009-9358-z>

Kim, J. E., & Lee, Y. J. (2017). Molecular characterization of antimicrobial resistant non-typhoidal *Salmonella* from poultry industries in Korea. *Irish Veterinary Journal*, 70(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/s13620-017-0095-8>

Kim, S., Ryu, K., Biswas, D., & Ahn, J. (2014). Survival, prophage induction, and invasive properties of lysogenic *Salmonella* Typhimurium exposed to simulated gastrointestinal conditions. *Archives of Microbiology*, 196(9), 655–659. <https://doi.org/10.1007/s00203-014-1005-z>

Knudsen, D. M., Yamamoto, S. A., & Harris, L. J. (2001). Survival of *Salmonella* spp. and *Escherichia coli* O157 : H7 on fresh and frozen strawberries. *Journal of Food Protection*, 64(10), 1483–1488. Retrieved from 10.4315/0362-028x-64.10.1483

Kosa, K. M., Cates, S. C., Karns, S., Godwin, S. L., & Chambers, D. (2007). Consumer home refrigeration practices: results of a web-based survey. *Journal of Food Protection*, 70(7), 1640–1649. <https://doi.org/10.1016/j.jada.2006.05.213>

- Koseki, S., Mizuno, Y., & Sotome, I. (2011). Modeling of pathogen survival during simulated gastric digestion. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(3), 1021–1032. <https://doi.org/10.1128/AEM.02139-10>
- Koutsoumanis, K. P., & Sofos, J. N. (2004). Comparative acid stress response of *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* Typhimurium after habituation at different pH conditions. *Letters in Applied Microbiology*, 38(4), 321–326. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2004.01491.x>
- Kovats, R. S., Edwards, S. J., Hajat, S., Armstrong, B. G., Ebi, K. L., Menne, B., & Group, T. C. (2004). The effect of temperature on food poisoning: a time-series analysis of salmonellosis in ten European countries. *Epidemiology and Infection*, 132, 443–453. <https://doi.org/10.1017/S0950268804001992>
- Koziolek, M., Schneider, F., Grimm, M., Mode, C., Seekamp, A., Roustom, T., ... Weitschies, W. (2015). Intra-gastric pH and pressure profiles after intake of the high-caloric, high-fat meal as used for food effect studies. *Journal of Controlled Release*, 220, 71–78. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2015.10.022>
- Krzyzanowski, F., Zappellini, L., Martone-Rocha, S., Dropa, M., Matté, M. H., Nacache, F., & Razzolini, M. T. P. (2014). Quantification and characterization of *Salmonella* spp. Isolates in sewage sludge with potential usage in agriculture. *BMC Microbiology*, 14(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/s12866-014-0263-x>
- Kuan, C. H., Lim, L. W. K., Ting, T. W., Rukayadi, Y., Ahmad, S. H., Wan Mohamed Radzi, C. W. J., ... Radu, S. (2017). Simulation of decontamination and transmission of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* Enteritidis, and *Listeria monocytogenes* during handling of raw vegetables in domestic kitchens. *Food Control*, 80, 395–400. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.05.029>
- Kuang, D., Xu, X., Meng, J., Yang, X., Jin, H., Shi, W., ... Zhang, J. (2015). Antimicrobial susceptibility, virulence gene profiles and molecular subtypes of *Salmonella* Newport isolated from humans and other sources. *Infection, Genetics and Evolution*, 36, 294–299. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2015.10.003>
- Kumar, A., Allison, A., Henry, M., Scales, A., & Fouladkhah, A. C. (2019).

- Development of salmonellosis as affected by bioactive food compounds. *Microorganisms*, 7(9), 364. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7090364>
- Kusumaningrum, H. D., Riboldi, G., Hazeleger, W. C., & Beumer, R. R. (2003). Survival of foodborne pathogens on stainless steel surfaces and cross-contamination to foods. *International Journal of Food Microbiology*, 85(3), 227–236. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(02\)00540-8](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(02)00540-8)
- Kusumaningrum, H. D., Van Asselt, E. D., Beumer, R. R., & Zwietering, M. H. (2004). A quantitative analysis of cross-contamination of *Salmonella* and *Campylobacter* spp. via domestic kitchen surfaces. *Journal of Food Protection*, 67(9), 1892–1903. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-67.9.1892>
- Lago, M., Monteil, V., Douche, T., Guglielmini, J., Criscuolo, A., Maufrais, C., ... Norel, F. (2017). Proteome remodelling by the stress sigma factor RpoS/ $\sigma$ S in *Salmonella*: Identification of small proteins and evidence for post-transcriptional regulation. *Scientific Reports*, 7(1), 1–15. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-02362-3>
- Lamas, A., Fernandez-No, I. C., Miranda, J. M., Vázquez, B., Cepeda, A., & Franco, C. M. (2016). Biofilm formation and morphotypes of *Salmonella enterica* subsp. arizonae differs from those of other *Salmonella enterica* subspecies in isolates from poultry houses. *Journal of Food Protection*, 79(7), 1127–1134. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-15-568>
- Lamas, Alexandre, Miranda, J. M., Regal, P., Vázquez, B., Franco, C. M., & Cepeda, A. (2018). A comprehensive review of non-enterica subspecies of *Salmonella enterica*. *Microbiological Research*, 206(May 2017), 60–73. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2017.09.010>
- Lambertini, E., Barouei, J., Schaffner, D. W., Danyluk, M. D., & Harris, L. J. (2017). Modeling the risk of salmonellosis from consumption of pistachios produced and consumed in the United States. *Food Microbiology*, 67, 85–96. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2017.06.003>
- Langsrud, S., Sørheim, O., Skuland, S. E., Almli, V. L., Jensen, M. R., Grøvlen, M. S., ... Møretrø, T. (2020). Cooking chicken at home: Common or recommended approaches to judge doneness may not assure sufficient inactivation of

- pathogens. *PLoS ONE*, 15(4), 1–27.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0230928>
- Larock, D. L., Chaudhary, A., & Miller, S. I. (2015). *Salmonellae* interactions with host processes. *Nature Reviews Microbiology*, 13(4), 191–205.  
<https://doi.org/10.1038/nrmicro3420>
- Larsen, M. V., Cosentino, S., Rasmussen, S., Friis, C., Hasman, H., Marvig, R. L., ... Lund, O. (2012). Multilocus sequence typing of total-genome-sequenced bacteria. *Journal of Clinical Microbiology*, 50(4), 1355–1361.  
<https://doi.org/10.1128/JCM.06094-11>
- Latimer, H. K., Jaykus, L. A., Morales, R. A., Cowen, P., & Crawford-Brown, D. (2001). A weighted composite dose-response model for human salmonellosis. *Risk Analysis*, 21(2), 295–306. <https://doi.org/10.1111/0272-4332.212112>
- Leal-Cervantes, M. G., Arvizu-Medrano, S. M., Martinez-Peniche, R., Martinez-Gonzales, N. E., & Hernandez-Iturriaga, M. (2018). Microbiological quality and incidence of *Salmonella* on cherry tomatoes at retail in Querétaro, México. *Journal of Food Protection*, 81(4), 614–618. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-17-377>
- Lee, K., Baek, S., Kim, D., & Seo, J. (2019). A freshness indicator for monitoring chicken-breast spoilage using a Tyvek® sheet and RGB color analysis. *Food Packaging and Shelf Life*, 19(July 2018), 40–46.  
<https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2018.11.016>
- Leekitcharoenphon, P., Hendriksen, R. S., Hello, S. Le, Weill, F.-X., Baggesen, D. L., Jun, S.-R., ... Aarestrup, F. M. (2016). Global genomic epidemiology of *Salmonella* global genomic epidemiology of *Salmonella enterica* serovar. *Applied and Environmental Microbiology*, 82(8), 2516–2526.  
<https://doi.org/10.1128/AEM.03821-15.Editor>
- Leyva Castillo, V., Cisneros Despaigne, E., Valdés Amey, E., Nolasco Charón, T., & Pérez Rodríguez, O. (1998). Aislamiento de *Salmonellas* atípicas en camarones congelados. *Rev. Cuba. Aliment. Nutr*, 12(1), 11–15. Retrieved from <http://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/es/cum-13445>
- Li-Cohen, A. E., & Bruhn, C. M. (2002). Safety of consumer handling of fresh produce

- from the time of purchase to the plate: a comprehensive consumer survey. *Journal of Food Protection*, 65(8), 1287–1296. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-65.8.1287>
- Li, B., Qiu, Y., Shi, H., & Yin, H. (2016). The importance of lag time extension in determining bacterial resistance to antibiotics. *Analyst*, 141(10), 3059–3067. <https://doi.org/10.1039/c5an02649k>
- Li, K., Ye, S., Alali, W. Q., Wang, Y., Wang, X., Xia, X., & Yang, B. (2017). Antimicrobial susceptibility, virulence gene and pulsed-field gel electrophoresis profiles of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium recovered from retail raw chickens, China. *Food Control*, 72, 36–42. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.07.032>
- Lianou, A., & Koutsoumanis, K. P. (2011). Effect of the growth environment on the strain variability of *Salmonella enterica* kinetic behavior. *Food Microbiology*, 28(4), 828–837. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2010.04.006>
- Lianou, A., & Koutsoumanis, K. P. (2012). Strain variability of the biofilm-forming ability of *Salmonella enterica* under various environmental conditions. *International Journal of Food Microbiology*, 160(2), 171–178. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.10.002>
- Lianou, A., Nychas, G. J. E., & Koutsoumanis, K. P. (2017a). Variability in the adaptive acid tolerance response phenotype of *Salmonella enterica* strains. *Food Microbiology*, 62, 99–105. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2016.10.011>
- Libby, S. J., Lesnick, M., Hasegawa, P., Weidenhammer, E., & Guiney, D. G. (2000). The *Salmonella* virulence plasmid *spv* genes are required for cytopathology in human monocyte-derived macrophages. *Cellular Microbiology*, 2(1), 49–58. <https://doi.org/10.1046/j.1462-5822.2000.00030.x>
- Lin, C. T. J., Jensen, K. L., & Yen, S. T. (2005). Awareness of foodborne pathogens among US consumers. *Food Quality and Preference*, 16(5), 401–412. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2004.07.001>
- Liss, V., Swart, A. L., Kehl, A., Hermanns, N., Zhang, Y., Chikkaballi, D., ... Hensel, M. (2017). *Salmonella enterica* remodels the host cell endosomal system for efficient intravacuolar nutrition. *Cell Host and Microbe*, 21(3), 390–402.

<https://doi.org/10.1016/j.chom.2017.02.005>

- Litrup, E., Torpdahl, M., Malorny, B., Huehn, S., Christensen, H., & Nielsen, E. M. (2010). Association between phylogeny, virulence potential and serovars of *Salmonella enterica*. *Infection, Genetics and Evolution*, 10(7), 1132–1139. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2010.07.015>
- Liu, W. bing, Liu, B., Zhu, X. na, Yu, S. jing, & Shi, X. ming. (2011). Diversity of *Salmonella* isolates using serotyping and multilocus sequence typing. *Food Microbiology*, 28(6), 1182–1189. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2011.04.001>
- London, N., Raveh, B., Cohen, E., Fathi, G., & Schueler-Furman, O. (2011). Rosetta FlexPepDock web server--high resolution modeling of peptide-protein interactions. *Nucleic Acids Research*, 39(Web Server issue), W249-53. <https://doi.org/10.1093/nar/gkr431>
- López, F. E., de las Mercedes Pescaretti, M., Morero, R., & Delgado, M. A. (2012). *Salmonella* Typhimurium general virulence factors: A battle of David against Goliath? *Food Research International*, 45(2), 842–851. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.08.009>
- Lorenzo-Márquez, H., Torres-Dosal, A., Barba Macías, E., Ilizaliturri Hernández, C. A., Martínez-Salinas, R. I., Morales López, J. J., & Sánchez Moreno, I. (2016). Estimación de riesgo de exposición a metales pesados por consumo de plecos (*Pterygoplichthys* spp.) en infantes de comunidades ribereñas de los ríos Grijalva y Usumacinta, México. *Revista Internacional de Contaminacion Ambiental*, 32(2), 153–164. <https://doi.org/10.20937/RICA.2016.32.02.02>
- Loströh, C. P., & Lee, C. a. (2001). The *Salmonella* pathogenicity island-1 type III secretion system. *Microbes and Infection / Institut Pasteur*, 3, 1281–1291. [https://doi.org/10.1016/S1286-4579\(01\)01488-5](https://doi.org/10.1016/S1286-4579(01)01488-5)
- Lu, F., & Cai, J. (2010). The protective effect of *Bdellovibrio*-and-like organisms (BALO) on tilapia fish fillets against *Salmonella enterica* ssp. *enterica* serovar Typhimurium. *Letters in Applied Microbiology*, 51(6), 625–631. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2010.02943.x>
- Lucarelli, C., Dionisi, A. M., Torpdahl, M., Villa, L., Graziani, C., Hopkins, K., ... Luzzi, I. (2010). Evidence for a second genomic island conferring multidrug resistance

in a clonal group of strains of *Salmonella enterica* serovar typhimurium and its monophasic variant circulating in Italy, Denmark, and the United Kingdom. *Journal of Clinical Microbiology*, 48(6), 2103–2109. <https://doi.org/10.1128/JCM.01371-09>

Lucero-Mejia, J. E. (2016). *Incidencia y comportamiento de Salmonella spp. y Listeria monocytogenes en queso ranchero*. Universidad Autónoma de Querétaro.

Luvsansharav, U. O., Vieira, A., Bennett, S., Huang, J., Healy, J. M., Hoekstra, R. M., ... Cole, D. (2020). *Salmonella* serotypes: A novel measure of association with foodborne transmission. *Foodborne Pathogens and Disease*, 17(2), 151–155. <https://doi.org/10.1089/fpd.2019.2641>

Luzardo-Ocampo, I., Campos-Vega, R., Gaytán-Martínez, M., Preciado-Ortiz, R., Mendoza, S., & Loarca-Piña, G. (2017). Bioaccessibility and antioxidant activity of free phenolic compounds and oligosaccharides from corn (*Zea mays* L.) and common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) chips during in vitro gastrointestinal digestion and simulated colonic fermentation. *Food Research International*, 100, 304–311. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.07.018>

Lynch, M. F., Tauxe, R. V., & Hedberg, C. W. (2009). The growing burden of foodborne outbreaks due to contaminated fresh produce: Risks and opportunities. *Epidemiology and Infection*, 137(3), 307–315. <https://doi.org/10.1017/S0950268808001969>

Macías-Rodríguez, M. E., Navarro-Hidalgo, V., Linares-Morales, J. R., Olea-Rodríguez, M. A., Villaruel-López, A., Castro-Rosas, J., ... Torres-Vitela, M. R. (2013). Microbiological safety of domestic refrigerators and the dishcloths used to clean them in Guadalajara, Jalisco, Mexico. *Journal of Food Protection*, 76(6), 984–990. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-12-258>

MacKenzie, K. D., Palmer, M. B., Köster, W. L., & White, A. P. (2017). Examining the link between biofilm formation and the ability of pathogenic *Salmonella* strains to colonize multiple host species. *Frontiers in Veterinary Science*, 4(AUG), 1–19. <https://doi.org/10.3389/fvets.2017.00138>

Maffei, D. F., Sant'Ana, A. S., Franco, B. D. G. M., & Schaffner, D. W. (2017).

Quantitative assessment of the impact of cross-contamination during the washing step of ready-to-eat leafy greens on the risk of illness caused by *Salmonella*. *Food Research International*, 92, 106–112. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.12.014>

Majiorakos, A.-P., Srinivasan, A., Carey, R. B., Carmeli, Y., Falagas, M. E., Giske, C., ... Monnet, D. L. (2012). Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical Microbiology and Infection*, 18(3), 268–281.

Mahmoud, B. (2019). Improving capacity-building for food safety risk assessment in developing countries. *Food Magazine*. Retrieved from <https://www.food-safety.com/articles/6273-improving-capacity-building-for-food-safety-risk-assessment-in-developing-countries>

Majowicz, S. E., Musto, J., Scallan, E., Angulo, F. J., Kirk, M., O'Brien, S. J., ... Hoekstra, R. M. (2010). The global burden of nontyphoidal *Salmonella* gastroenteritis. *Clinical Infectious Diseases*, 50(6), 882–889. <https://doi.org/10.1086/650733>

Malagelada, J. R., Longstreth, G. F., Summerskill, W. H. J., & Go, V. L. W. (1976). Measurement of gastric functions during digestion of ordinary solid meals in man. *Gastroenterology*, 70(2), 203–210. [https://doi.org/10.1016/S0016-5085\(76\)80010-8](https://doi.org/10.1016/S0016-5085(76)80010-8)

Marklinder, I. M., Lindblad, M., Eriksson, L. M., Finnson, A. M., & Lindqvist, R. (2004). Home storage temperatures and consumer handling of refrigerated foods in Sweden. *Journal of Food Protection*, 67(11), 2570–2577. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-67.11.2570>

Marks, H. M., & Coleman, M. E. (2017). Scientific data and theories for salmonellosis dose–response assessment. *Human and Ecological Risk Assessment*, 23(8), 1857–1876. <https://doi.org/10.1080/10807039.2017.1352443>

Martínez-Chávez, L., Cabrera-Díaz, E., Pérez-Montaño, J. A., Garay-Martínez, L. E., Varela-Hernández, J. J., Castillo, A., ... Martínez-González, N. E. (2015). Quantitative distribution of *Salmonella* spp. and *Escherichia coli* on beef

- carcasses and raw beef at retail establishments. *International Journal of Food Microbiology*, 210, 149. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.06.016>
- Maurer, J. J. (2017). Factors affecting variation in *Salmonella* virulence. In J. B. Gurtler, M. P. Doyle, & K. J. L (Eds.), *Foodborne Pathogens* (pp. 151–167). Springer.
- McCarthy, M., Brennan, M., Kelly, A. L., Ritson, C., de Boer, M., & Thompson, N. (2007). Who is at risk and what do they know? Segmenting a population on their food safety knowledge. *Food Quality and Preference*, 18(2), 205–217. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2005.10.002>
- McCullough, N. B., & Eisele, C. W. (1951a). Experimental human salmonellosis : I . pathogenicity of strains of *Salmonella* Meleagridis and *Salmonella* Anatum obtained from spray-dried whole. *The Journal of Infectious Diseases* , Vol. 88(3), 278–289.
- McCullough, N. B., & Eisele, C. W. (1951b). Experimental human salmonellosis. II. Immunity studies following experimental illness with *Salmonella* Meleagridis and *Salmonella* Anatum. *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 66(5), 595–608.
- McDonald, E. K., Rasmussen, H., Forsyth, C., & Keshavarzian, A. (2018). The *in vivo* foundations for *in vitro* testing of functional foods . *Functional Foods and Beverages*, 15–51. <https://doi.org/10.1002/9781118823309.ch2>
- McGhie, E. J., Brawn, L. C., Hume, P. J., Humphreys, D., & Koronakis, V. (2009). *Salmonella* takes control: effector-driven manipulation of the host. *Current Opinion in Microbiology*, 12(1), 117–124. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2008.12.001>
- McLauchlin, J., Mitchell, R. T., Smerdon, W. J., & Jewell, K. (2004). *Listeria monocytogenes* and listeriosis: A review of hazard characterisation for use in microbiological risk assessment of foods. *International Journal of Food Microbiology*, 92(1), 15–33. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(03\)00326-X](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(03)00326-X)
- Melo, A. N. F. de, Souza, G. T. de, Schaffner, D., Oliveira, T. C. M. de, Maciel, J. F., Souza, E. L. de, & Magnani, M. (2017). Changes in thermo-tolerance and survival under simulated gastrointestinal conditions of *Salmonella* Enteritidis

- PT4 and Salmonella Typhimurium PT4 in chicken breast meat after exposure to sequential stresses. *International Journal of Food Microbiology*, 251, 15–23. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.03.022>
- Michael, G. B., & Schwarz, S. (2016). Antimicrobial resistance in zoonotic nontyphoidal *Salmonella*: an alarming trend? *Clinical Microbiology and Infection*, 22(12), 968–974. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2016.07.033>
- Miles, S., & Frewer, L. J. (2001). Investigating specific concerns about different food hazards. *Food quality and preference*, 12(1), 47-61..
- Minekus, M., Alminger, M., Alvito, P., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu, C., ... Brodkorb, A. (2014). A standardised static *in vitro* digestion method suitable for food-an international consensus. *Food and Function*, 5(6), 1113–1124. <https://doi.org/10.1039/c3fo60702j>
- Miranda, J. M., Mondragón, A. C., Martínez, B., Guarddon, M., & Rodríguez, J. A. (2009). Prevalence and antimicrobial resistance patterns of *Salmonella* from different raw foods in Mexico. *Journal of Food Protection*, 72(5), 966–971. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-72.5.966>
- Mishra, A., Guo, M., Buchanan, R. L., Schaffner, D. W., & Pradhan, A. K. (2017). Development of growth and survival models for *Salmonella* and *Listeria monocytogenes* during non-isothermal time-temperature profiles in leafy greens. *Food Control*, 71, 32–41. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.06.009>
- Mitakakis, T. Z., Sinclair, M. I., Fairley, C. K., Lightbody, P. K., Leder, K., & Hellard, M. E. (2004). Food safety in family homes in Melbourne, Australia. *Journal of Food Protection*, 67(4), 818–822. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-67.4.818>
- Møller, C. O. A., Ilg, Y., Aabo, S., Christensen, B. B., Dalgaard, P., & Hansen, T. B. (2013). Effect of natural microbiota on growth of *Salmonella* spp. in fresh pork - A predictive microbiology approach. *Food Microbiology*, 34(2), 284–295. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2012.10.010>
- Monte, D. F., Lincopan, N., Berman, H., Cerdeira, L., Keelara, S., Thakur, S., ... Landgraf, M. (2019). Genomic features of high-priority *Salmonella enterica* serovars circulating in the food production chain, Brazil, 2000–2016. *Scientific*

*Reports*, 9(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-45838-0>

Moreno-Gómez, S., Kiviet, D. J., Vulin, C., Schlegel, S., Schlegel, K., Doorn, G. S. Van, & Ackermann, M. (2020). Wide lag time distributions break a trade-off between reproduction and survival in bacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 117(31), 18729–18736. <https://doi.org/10.1073/pnas.2003331117>

Mundo-Rosas, V., De La Cruz-Góngora, V., Jiménez-Aguilar, A., & Shamah-Levy, T. (2014). Diversidad de la dieta y consumo de nutrientes en niños de 24 a 59 meses de edad y su asociación con inseguridad alimentaria. *Salud Pública de México*, 56 (1), 39–46.

Mürmann, L., Corbellini, L. G., Collor, A. Á., & Cardoso, M. (2011). Quantitative risk assessment for human salmonellosis through the consumption of pork sausage in Porto Alegre, Brazil. *Journal of Food Protection*, 74(4), 553–558. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-10-339>

Murray, R., Glass-Kaasta, S., Gardhouse, C., Marshall, B., Ciampa, N., Franklin, K., ... Nesbitt, A. (2017). Canadian consumer food safety practices and knowledge: Foodbook study. *Journal of Food Protection*, 80(10), 1711–1718. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-17-108>

Nair, A., Rawool, D. B., Doijad, S., Poharkar, K., Mohan, V., Barbuddhe, S. B., ... Balasaravanan, T. (2015). Biofilm formation and genetic diversity of *Salmonella* isolates recovered from clinical, food, poultry and environmental sources. *Infection, Genetics and Evolution*, 36, 424–433. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2015.08.012>

Nauta, M., Hill, A., Rosenquist, H., Brynestad, S., Fetsch, A., van der Logt, P., ... Havelaar, A. (2009). A comparison of risk assessments on *Campylobacter* in broiler meat. *International Journal of Food Microbiology*, 129(2), 107–123. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2008.12.001>

Nayarit-Ballesteros, N., Rubio-Lozano, M. S., Delgado-Suárez, E., Méndez-Medina, D., Braña-Varela, D., & Rodas-Suárez, O. (2016). Perfil de resistencia a antibióticos de serotipos de *Salmonella* spp . aislados de carne de res molida en la Ciudad de México. *Salud Pública Mex*, 58(3), 371–377.

- Neuert, S., Nair, S., Day, M. R., Doumith, M., Ashton, P. M., Mellor, K. C., ... Dallman, T. J. (2018). Prediction of phenotypic antimicrobial resistance profiles from whole genome sequences of non-typhoidal *Salmonella enterica*. *Frontiers in Microbiology*, 9(MAR), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00592>
- Nguyen, H. D. N., & Yuk, H. G. (2013). Changes in resistance of *Salmonella* Typhimurium biofilms formed under various conditions to industrial sanitizers. *Food Control*, 29(1), 236–240. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.06.006>
- Nguyen, T. P., Friedrich, L. M., & Danyluk, M. D. (2014). Fate of *Escherichia coli* O157: H7 and *Salmonella* on whole strawberries and blueberries of two maturities under different storage conditions. *Journal of Food Protection*, 77(7), 1093–1101. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-13-517>
- Nielsen. (2016). ¿Qué hay en nuestra comida y en nuestra mente?. Ingredientes y tendencias de comidad fuera de cada alrededor del mundo. Retrieved from <https://www.nielsen.com/wp-content/uploads/sites/3/2019/04/nielsen-global-ingredient-and-out-of-home-dining-trends-report-germany.pdf>
- Nillian, E., Ching, C. L., Fung, P. C., Robin, T., Anyi, U., Chilek, T. Z. T., ... Nishibuchi, M. (2011). Simultaneous detection of *Salmonella* spp., *Salmonella* Enteritidis and *Salmonella* Typhimurium in raw salad vegetables and vegetarian burger patties. *Food and Nutrition Sciences*, 02(10), 1077–1081. <https://doi.org/10.4236/fns.2011.210144>
- Noda, T., Murakami, K., Asai, T., Etoh, Y., Ishihara, T., Kuroki, T., ... Fujimoto, S. (2011). Multi-locus sequence typing of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Enteritidis strains in Japan between 1973 and 2004. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 53(1), 1–6. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-53-38>
- Nychas, G. J. E., & Tassou, C. C. (1996). Growth/survival of *Salmonella* Enteritidis on fresh poultry and fish stored under vacuum or modified atmosphere. *Letters in Applied Microbiology*, 23(2), 115–119. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.1996.tb00044.x>
- O'Regan, E., Quinn, T., Frye, J. G., Pagés, J. M., Porwollik, S., Fedorka-Cray, P. J., ... Fanning, S. (2010). Fitness costs and stability of a high-level ciprofloxacin resistance phenotype in *Salmonella enterica* serotype Enteritidis: Reduced

infectivity associated with decreased expression of *Salmonella* pathogenicity island 1 genes. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 54(1), 367–374. <https://doi.org/10.1128/AAC.00801-09>

OCDE/SE. *Exámenes de mercado en México. Estudio del mercado de la carne de pollo 2018.* , (2018).

Oliveira, M., Wijnands, L., Abadias, M., Aarts, H., & Franz, E. (2011). Pathogenic potential of *Salmonella* Typhimurium DT104 following sequential passage through soil, packaged fresh-cut lettuce and a model gastrointestinal tract. *International Journal of Food Microbiology*, 148(3), 149–155. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.05.013>

Oscar, T. (2004). Dose-response model for 13 strains of *Salmonella*. *Risk Analysis*, 24(1), 41–49. <https://doi.org/10.1111/j.0272-4332.2004.00410.x>

Oscar, T. P. (2007). Predictive models for growth of *Salmonella* Typhimurium DT104 from low and high initial density on ground chicken with a natural microflora. *Food Microbiology*, 24(6), 640–651. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2006.11.003>

Oscar, T. P. (2008). Development and validation of a stochastic model for predicting the growth of *Salmonella* Typhimurium DT104 from a low initial density on chicken frankfurters with native microflora. *Journal of Food Protection*, 71(6), 1135–1144. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-71.6.1135>

Oscar, T. P. (2013). Initial contamination of chicken parts with salmonella at retail and cross-contamination of cooked chicken with *Salmonella* from raw chicken during meal preparation. *Journal of Food Protection*, 76(1), 33–39. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-12-224>

Oscar, T. P. (2017). Risk of salmonellosis from hicken parts prepared from whole chickens sold in flow pack wrappers and subjected to temperature abuse. *Journal of Food Protection*, 80(9), 1496–1505. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-17-097>

Oscar, T. P. (2019). Process risk model for *Salmonella* and ground chicken. *Journal of Applied Microbiology*, 127(4), 1236–1245. <https://doi.org/10.1111/jam.14395>

Osman, K. M., Marouf, S. H., & Alatfeehy, N. (2013). Antimicrobial resistance and virulence-associated genes of *Salmonella enterica subsp. enterica* serotypes

- Muenster, Florian, Omuna, and Noya strains isolated from clinically diarrheic humans in Egypt. *Microbial Drug Resistance*, 19(5), 370–377. <https://doi.org/10.1089/mdr.2012.0151>
- Paesold, G., Guiney, D. G., Eckmann, L., & Kagnoff, M. F. (2002). Genes in the *Salmonella* pathogenicity island 2 and the *Salmonella* virulence plasmid are essential for *Salmonella*-induced apoptosis in intestinal epithelial cells. *Cellular Microbiology*, 4(11), 771–781. <https://doi.org/10.1046/j.1462-5822.2002.00233.x>
- Paniagua-Contreras, G. L., Monroy-Pérez, E., & Vaca-Pacheco, S. (2008). Prevalencia de *Salmonella* spp en diarrea de niños de una zona urbana del Estado de México. *Rev. Med. Hosp. Gen. Mex.*, 71(4), 192–198.
- Papavasileiou, K., Papavasileiou, E., Tseleni-Kotsovili, A., Bersimis, S., Nicolaou, C., Ioannidis, A., & Chatzipanagiotou, S. (2010). Comparative antimicrobial susceptibility of biofilm versus planktonic forms of *Salmonella enterica* strains isolated from children with gastroenteritis. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 29(11), 1401–1405. <https://doi.org/10.1007/s10096-010-1015-y>
- Parisi, A., Crump, J. A., Glass, K., Howden, B. P., Furuya-Kanamori, L., Vilkins, S., ... Kirk, M. D. (2018). Health outcomes from multidrug-resistant *Salmonella* infections in high-income countries: A systematic review and meta-analysis. *Foodborne Pathogens and Disease*, 15(7), 428–436. <https://doi.org/10.1089/fpd.2017.2403>
- Parrilla-Cerrillo, M. C., Saldade-Castañeda, E.-O., & Nicoli-Tolosa, L. M. (1978). Incidencia de *Salmonella* en productos cárneos. *Salud Publica de Mexico*, 20(5), 569–574.
- Pasmans, F., Martel, A., Boyen, F., Vandekerchove, D., Wybo, I., Van Immerseel, F., ... Haesebrouck, F. (2005). Characterization of *Salmonella* isolates from captive lizards. *Veterinary Microbiology*, 110(3–4), 285–291. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2005.07.008>
- Patil, S. R., Morales, R., Cates, S., Anderson, D., & Kendall, D. (2004). An application of meta-analysis in food safety consumer research to evaluate

- consumer behaviors and practices. *Journal of Food Protection*, 67(11), 2587–2595. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-67.11.2587>
- Pegueros-Valencia, C.A. (2021). *Efecto de los residuos de piel, carne cruda y cocida, y sus interacciones con las condiciones de almacenamiento, tipo de superficie y microbiota nativa del pollo sobre la formación de biopelículas de Salmonella enterica*. Universidad Autónoma de Querétaro. (en proceso).
- Penteado, A. L., de Castro, M. F. P. M., & Rezende, A. C. B. (2014). *Salmonella enterica* serovar Enteritidis and *Listeria monocytogenes* in mango (*Mangifera indica* L.) pulp: growth, survival and cross-contamination. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94(13), 2746–2751. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6619>
- Perez-Montaña, J. A., Gonzalez-Aguilar, D., Barba, J., Pacheco-Gallardo, C., Perez-Montan, J. A., Campos-Bravo, C. A., ... Cabrera-Diaz, E. (2012). Frequency and antimicrobial resistance of *Salmonella* serotypes on beef carcasses at small abattoirs in Jalisco State , Mexico. *Journal of Food Protection*, 75(5), 867–873. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-11-423>
- Pérez-Rodríguez, F., Van Asselt, E. D., García-Gimeno, R. M., Zurera, G., & Zwietering, M. H. (2007). Extracting additional risk managers information from a risk assessment of *Listeria monocytogenes* in deli meats. *Journal of Food Protection*, 70(5), 1137–1152. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-70.5.1137>
- Perez, K. J., Ceccon, R. V., Da Silva Malheiros, P., Jong, E. V., & Cesar Tondo, E. (2010). Influence of acid adaptation on the survival of *Salmonella* Enteritidis and *Salmonella* Typhimurium in simulated gastric fluid and in *Rattus Norvegicus* intestine infection. *Journal of Food Safety*, 30(2), 398–414. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4565.2010.00215.x>
- Peterson, G., Gerdes, B., Berges, J., Nagaraja, T. G., Frye, J. G., Boyle, D. S., & Narayanan, S. (2010). Development of microarray and multiplex polymerase chain reaction assays for identification of serovars and virulence genes in *Salmonella enterica* of human or animal origin. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 22(4), 559–569. <https://doi.org/10.1177/104063871002200410>
- Piras, F., Fois, F., Consolati, S. G., Mazza, R., & Mazzette, R. (2015). Influence of temperature, source, and serotype on biofilm formation of *Salmonella enterica*

- isolates from pig slaughterhouses. *Journal of Food Protection*, 78(10), 1875–1878. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-15-085>
- Pires, Sara M., Vieira, A. R., Hald, T., & Cole, D. (2014). Source attribution of human salmonellosis: An overview of methods and estimates. *Foodborne Pathogens and Disease*, 11(9), 667–676. <https://doi.org/10.1089/fpd.2014.1744>
- Pires, Sara M., Vieira, A. R., Perez, E., Wong, D. L. F., & Hald, T. (2012). Attributing human foodborne illness to food sources and water in Latin America and the Caribbean using data from outbreak investigations. *International Journal of Food Microbiology*, 152(3), 129–138. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.04.018>
- Pires, Sara Monteiro, Vigre, H., Makela, P., & Hald, T. (2010). Using outbreak data for source attribution of human salmonellosis and campylobacteriosis in Europe. *Foodborne Pathogens and Disease*, 7(11), 1351–1361. <https://doi.org/10.1089/fpd.2010.0564>
- Podolak, R., Enache, E., Stone, W., Black, D. G., & Elliott, P. H. (2010). Sources and risk factors for contamination, survival, persistence, and heat resistance of *Salmonella* in low-moisture Foods. *Journal of Food Protection*, 73(10), 1919–1936. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-73.10.1919>
- Pouillot, R., Garin, B., Ravaonindrina, N., Diop, K., Ratsitorahina, M., Ramanantsoa, D., & Rocourt, J. (2012). A risk assessment of campylobacteriosis and salmonellosis linked to chicken meals prepared in households in Dakar, Senegal. *Risk Analysis*, 32(10), 1798–1819. <https://doi.org/10.1111/j.1539-6924.2012.01796.x>
- Pui, C. F., Wong, W. C., Chai, L. C., Lee, H. Y., Tang, J. Y. H., Noorlis, A., ... Son, R. (2011). Biofilm formation by *Salmonella* Typhi and *Salmonella* Typhimurium on plastic cutting board and its transfer to dragon fruit. *International Food Research Journal*, 18(1), 31–38.
- Pui, C. F., Wong, W. C., Chai, L. C., Tunung, R., Jeyaletchumi, P., Noor Hidayah, M. N., ... Son, R. (2011). *Salmonella*: A foodborne pathogen. *International Food Research Journal*, 18(2), 465–473.
- Qadri, O. S., Yousuf, B., & Srivastava, A. K. (2015). Fresh-cut fruits and vegetables:

Critical factors influencing microbiology and novel approaches to prevent microbial risks: A review. *Cogent Food & Agriculture*, 1(1), 1–11. <https://doi.org/10.1080/23311932.2015.1121606>

Quiñones-Ramírez, E. I., Vázquez-Salinas, C., Pedroche, F. F., Moreno-Sepúlveda, L., & Rodas-Suárez, O. R. (2000). Presencia de los géneros *Vibrio* y *Salmonella*, y detección de coliformes fecales en almejas del Golfo de México. *Hidrobiologica*, 10(2), 131–138.

Quiroz-Santiago, C., Rodas-Suárez, O. R., Carlos R, V., Fernández, F. J., Quiñones-Ramírez, E. I., & Vázquez-Salinas, C. (2009). Prevalence of *Salmonella* in vegetables from Mexico. *Journal of Food Protection*, 72(6), 1279–1282. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-72.6.1279>

Ragazzo-Sanchez, J. A., Sanchez-Prado, L., Gutiérrez-Martínez, P., Luna-Solano, G., Gomez-Gil, B., & Calderon-Santoyo, M. (2009). Inhibition of *Salmonella* spp. isolated from mango using bacteriocin-like produced by lactobacilli Inhibición de *Salmonella* spp. aislada de mango usando sustancias tipo bacteriocinas producidas por lactobacilos. *CYTA - Journal of Food*, 7(3), 181–187. <https://doi.org/10.1080/19476330903010276>

Ramalheira, R., Almeida, M., Azeredo, J., Brandão, T. R. S., Almeida, G., Silva, J., & Teixeira, P. (2010). Survival of clinical and food isolates of *Listeria monocytogenes* through simulated gastrointestinal tract conditions. *Foodborne Pathogens and Disease*, 7(2), 121–128. <https://doi.org/10.1089/fpd.2009.0319>

Ramos-Morales, F. (2012). Acidic pH Enemy or ally for enteric bacteria? *Virulence*, 3(2), 103–106. <https://doi.org/10.4161/viru.19382>

Rangel-Vargas, E., Gómez-Aldapa, C. A., Torres-Vitela, M. R., Villarruel-Lopez, A., Gordillo-Martínez, A. J., & Castro-Rosas., J. (2015). Presence and correlation of some enteric indicator bacteria, diarrheagenic *Escherichia coli* pathotypes, and *Salmonella* serotypes in alfalfa sprouts from local retail markets in Pachuca, Mexico. *Journal of Food Protection*, 78(3), 609–614.

Ranjbar, R., Rahmati, H., & Shokoohizadeh, L. (2018). Detection of common clones of *Salmonella enterica* serotype infantis from human sources in tehran hospitals. *Gastroenterology and Hepatology from Bed to Bench*, 11(1), 54–59.

<https://doi.org/10.22037/ghfbb.v0i0.1202>

- Rantsiou, K., Kathariou, S., Winkler, A., Skandamis, P., Saint-Cyr, M. J., Rouzeau-Szynalski, K., & Amézquita, A. (2018). Next generation microbiological risk assessment: opportunities of whole genome sequencing (WGS) for foodborne pathogen surveillance, source tracking and risk assessment. *International Journal of Food Microbiology*, 287(December 2017), 3–9. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.11.007>
- Ravishankar, S., Zhu, L., & Jaroni, D. (2010). Assessing the cross contamination and transfer rates of *Salmonella enterica* from chicken to lettuce under different food-handling scenarios. *Food Microbiology*, 27(6), 791–794. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2010.04.011>
- Realpe-Quintero, M., Barba-León, J., Pérez-Montaña, J. A., Pacheco-Gallardo, C., González-Aguilar, D., Dominguez-Arias, R. M., & Cabrera-Diaz, E. (2018). Genetic diversity and antimicrobial resistance of *Salmonella* serotypes recovered throughout the beef production chain and from patients with salmonellosis. *PeerJ*, 2018(8). <https://doi.org/10.7717/peerj.5482>
- Rebolledo, E. (2016). Padece 70% de mexicanos males de gastritis y reflujo | NTR Zacatecas .com. Retrieved from <http://ntrzacatecas.com/2016/07/19/padece-70-de-mexicanos-males-de-gastritis-y-reflujo/>
- Redmond, E. C., & Griffith, C. J. (2003). Consumer food handling in the home: A review of food safety studies. *Journal of Food Protection. Journal of Food Protection*, 66(1), 130–161.
- Regalado-Pineda, I. D., Rodarte-Medina, R., Resendiz-Nava, C. N., Saenz-Garcia, C. E., Castañeda-Serrano, P., & Nava, G. M. (2020). Three-year longitudinal study: Prevalence of *Salmonella enterica* in chicken meat is higher in supermarkets than wet markets from Mexico. *Foods*, 9(3). <https://doi.org/10.3390/foods9030264>
- Rezende, A. C. B., Crucello, J., Moreira, R. C., Silva, B. S., & Sant'Ana, A. S. (2016). Incidence and growth of *Salmonella enterica* on the peel and pulp of avocado (*Persea americana*) and custard apple (*Annona squamosa*). *International Journal of Food Microbiology*, 235, 10–16.

<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.06.034>

Rodriguez-Ceniceros, R., Gomez-Hernandez, F., & Vazquez-Sandoval, H. (2016). Presencia de *Campylobacter* y *Salmonella* en pollo a la venta en Gómez Palacio Durango, México. *Revista Electronica de Veterinaria*, 17(6).

Roeselers, G., Ponomarenko, M., Lukovac, S., & Wortelboer, H. M. (2013). *Ex vivo* systems to study host-microbiota interactions in the gastrointestinal tract. *Best Practice and Research: Clinical Gastroenterology*, 27(1), 101–113.

<https://doi.org/10.1016/j.bpg.2013.03.018>

Roseman, M., & Kurzynske, J. (2006). Food safety perceptions and behaviors of Kentucky consumers. *Journal of Food Protection*, 69(6), 1412–1421.

<https://doi.org/10.4315/0362-028X-69.6.1412>

Røssvoll, E. H., Lavik, R., Ueland, Ø., Jacobsen, E., Hagtvedt, T., & Langsrud, S. (2013). Food safety practices among norwegian consumers. *Journal of Food Protection*, 76(11), 1939–1947. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-12-269>

Rukchon, C., Nopwinyuwong, A., Trevanich, S., Jinkarn, T., & Suppakul, P. (2014). Development of a food spoilage indicator for monitoring freshness of skinless chicken breast. *Talanta*, 130, 547–554.

<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2014.07.048>

Ruzante, J. M., Davidson, V. J., Caswell, J., Fazil, A., Cranfield, J. A. L., Henson, S. J., ... Farber, J. M. (2010). A multifactorial risk prioritization framework for foodborne pathogens. *Risk Analysis*, 30(5), 724–742.

<https://doi.org/10.1111/j.1539-6924.2009.01278.x>

Rychlik, I., Karasova, D., Sebkova, A., Volf, J., Sisak, F., Havlickova, H., ... Nagy, B. (2009). Virulence potential of five major pathogenicity islands (SPI-1 to SPI-5) of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis for chickens. *BMC Microbiology*, 9, 1–9. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-9-268>

Sabike, I. I., Fujikawa, H., & Edris, A. M. (2015). The growth kinetics of *Salmonella* Enteritidis in raw ground beef. *Biocontrol Science*, 20(3), 185–192.

<https://doi.org/10.4265/bio.20.185>

SADER. (2019). Panorama Atlas Agroalimentario 2019.

Samelis, J., Ikeda, J. S., & Sofos, J. N. (2003). Evaluation of the pH-dependent,

stationary-phase acid tolerance in *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* Typhimurium DT104 induced by culturing in media with 1% glucose: A comparative study with *Escherichia coli* O157:H7. *Journal of Applied Microbiology*, 95(3), 563–575. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2003.02013.x>

Sampedro, F., Wells, S. J., Bender, J. B., & Hedberg, C. W. (2019). Developing a risk management framework to improve public health outcomes by enumerating *Salmonella* in ground Turkey. *Epidemiology and Infection*, 147. <https://doi.org/10.1017/S095026881800328X>

Sampers, I., Berkvens, D., Jacxsens, L., Ciocci, M. C., Dumoulin, A., & Uyttendaele, M. (2012). Survey of belgian consumption patterns and consumer behaviour of poultry meat to provide insight in risk factors for campylobacteriosis. *Food Control*, 26(2), 293–299. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.01.054>

Sánchez Jiménez, M. M., & Cardona Castro, N. M. (2003). Mecanismos de interacción de *Salmonella* con la mucosa intestinal. *Infectio: Revista de La Asociación Colombiana de Infectología*, 7(1), 23–29.

Sanlier, N. (2009). The knowledge and practice of food safety by young and adult consumers. *Food Control*, 20(6), 538–542. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2008.08.006>

Sant'Ana, A. S., Barbosa, M. S., Destro, M. T., Landgraf, M., & Franco, B. D. G. M. (2012). Growth potential of *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* in nine types of ready-to-eat vegetables stored at variable temperature conditions during shelf-life. *International Journal of Food Microbiology*, 157(1), 52–58. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.04.011>

Sanz-Puig, M., Pina-Pérez, M. C., Martínez-López, A., & Rodrigo, D. (2016). *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* Typhimurium inactivation by the effect of mandarin, lemon, and orange by-products in reference medium and in oat-fruit juice mixed beverage. *LWT - Food Science and Technology*, 66, 7–14. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.10.012>

Sarjit, A., & Dykes, G. A. (2017). Transfer of *Campylobacter* and *Salmonella* from poultry meat onto poultry preparation surfaces. *Journal of Food Protection*,

80(5), 750–757. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-16-414>

Sartí-Gutiérrez, E. J., Parrilla-Cerrillo, M. C., Saldade-Castañeda, O., & Rodríguez-Peralta, M. C. (1989). Calidad sanitaria del jamón que se consume en la ciudad de México. *Salud Publica de Mexico*, 31(3), 326–333.

Savran, D., Pérez-Rodríguez, F., & Kadir Halkman, A. (2018). Modelling survival of *Salmonella* Enteritidis during storage of yoghurt at different temperatures. *International Journal of Food Microbiology*, 271(February), 67–76. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.02.017>

Schultz, B. M., Salazar, G. A., Paduro, C. A., Pardo-Roa, C., Pizarro, D. P., Salazar-Echegarai, F. J., ... Bueno, S. M. (2018). Persistent *Salmonella enterica* serovar Typhimurium infection increases the susceptibility of mice to develop intestinal inflammation. *Frontiers in Immunology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01166>

Seribelli, A. A., Cruz, M. F., Vilela, F. P., Frazão, M. R., Paziani, M. H., Almeida, F., ... Falcão, J. P. (2020). Phenotypic and genotypic characterization of *Salmonella* Typhimurium isolates from humans and foods in Brazil. *PLoS ONE*, 15(8 August), 1–18. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0237886>

Serraino, A., Finazzi, G., Marchetti, G., Daminelli, P., Riu, R., Giacometti, F., ... Rosmini, R. (2012). Behaviour of *Salmonella* Typhimurium during production and storage of artisan water buffalo mozzarella cheese. *Italian Journal of Animal Science*, 11(3), 285–289. <https://doi.org/10.4081/ijas.2012.e53>

Shamah-Levy, T., Vielma-Orozco, E., Heredia-Hernández, O., Romero-Martínez, M., Mojica-Cuevas, J., Cuevas-Nasu, L., ... Rivera-Dommarco, J. Á. (2020). Encuesta nacional de salud y nutrición 2018. Resultados nacionales. In *Instituto Nacional de Salud Pública* (Vol. 53). Retrieved from [https://ensanut.insp.mx/encuestas/ensanut2018/doctos/informes/ensanut\\_2018\\_informe\\_final.pdf](https://ensanut.insp.mx/encuestas/ensanut2018/doctos/informes/ensanut_2018_informe_final.pdf)

Shashidhar, R., Srivastava, I., & Bandekar, J. R. (2011). Quantification of *Salmonella* in food samples from india using the MINI-MSRV MPN and modified MINI-MSRV MPN Methods. *Journal of Food Science*, 76(8). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02366.x>

- Shi, X., & Zhu, X. (2009). Biofilm formation and food safety in food industries. *Trends in Food Science and Technology*, 20(9), 407–413. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2009.01.054>
- SIAP. (2017). Atlas Agroalimentario 2017. *SIAP*, 231.
- Signorini, M. L., Marín, V., Quinteros, C., & Tarabla, H. (2009). Hábitos de consumo de hamburguesas y riesgo de exposición a *Escherichia coli* verotoxigénica (VTEC): Modelo de simulación. *Revista Argentina de Microbiología*, 41(3), 168–176.
- Singh, A., & Barnard, T. G. (2017). Adaptations in the physiological heterogeneity and viability of *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri* and *Salmonella* Typhimurium, after exposure to simulated gastric acid fluid. *Microbial Pathogenesis*, 113(October 2016), 378–384. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.11.014>
- Skyberg, J. A., Logue, C. M., & Nolan, L. K. (2006). Virulence genotyping of *Salmonella* spp. with multiplex PCR. *Avian Diseases*, 50(1), 77–81. <https://doi.org/10.1637/7417.1>
- Smadi, H., & Sargeant, J. M. (2013). Quantitative risk assessment of human salmonellosis in canadian broiler chicken breast from retail to consumption. *Risk Analysis*, 33(2), 232–248. <https://doi.org/10.1111/j.1539-6924.2012.01841.x>
- Smith, J. L. (2003). The role of gastric acid in preventing foodborne disease and how bacteria overcome acid conditions. *Journal of Food Protection*, 66(7), 1292–1303. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-66.7.1292>
- Smith, K. P., George, J., Cadle, K. M., Kumar, S., Aragon, S. J., Hernandez, R. L., ... Varela, M. F. (2010). Elucidation of antimicrobial susceptibility profiles and genotyping of *Salmonella enterica* isolates from clinical cases of salmonellosis in New Mexico in 2008. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 26(6), 1025–1031. <https://doi.org/10.1007/s11274-009-0265-2>
- Snary, E. L., Swart, A. N., Simons, R. R. L., Domingues, A. R. C., Vigre, H., Evers, E. G., ... Hill, A. A. (2016). A quantitative microbiological risk assessment for *Salmonella* in pigs for the European Union. *Risk Analysis*, 36(3), 437–449. <https://doi.org/10.1111/risa.12586>

- SNFA. (2018). Risk ranking of chemical and microbiological hazards in food. *EFSA Journal*, 16(July), 1–9. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.e160813>
- Srey, S., Jahid, I. K., & Ha, S. Do. (2013). Biofilm formation in food industries: A food safety concern. *Food Control*, 31(2), 572–585. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.12.001>
- SS/INSP. (2012). Ensanut 2012. *Instituto Nacional de Salud Pública*, p. 200. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- SS/INSP. (2016). Encuesta nacional de salud y nutrición de medio camino 2016. (ENSANUT MC 2016). *Instituto Nacional de Salud Pública, 2016(Ensanut)*, 151. <https://doi.org/10.21149/8593>
- Stepanović, S., Ćirković, I., Mijač, V., & Švabić-Vlahović, M. (2003). Influence of the incubation temperature, atmosphere and dynamic conditions on biofilm formation by *Salmonella* spp. *Food Microbiology*, 20(3), 339–343. [https://doi.org/10.1016/S0740-0020\(02\)00123-5](https://doi.org/10.1016/S0740-0020(02)00123-5)
- Stepanović, S., Ćirković, I., Ranin, L., & Švabić-Vlahović, M. (2004). Biofilm formation by *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* on plastic surface. *Letters in Applied Microbiology*, 38(5), 428–432. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2004.01513.x>
- Stepanović, Srdjan, Vuković, D., Dakić, I., Savić, B., & Švabić-Vlahović, M. (2000). A modified microtiter-plate test for quantification of staphylococcal biofilm formation. *Journal of Microbiological Methods*, 40(2), 175–179. [https://doi.org/10.1016/S0167-7012\(00\)00122-6](https://doi.org/10.1016/S0167-7012(00)00122-6)
- Straver, J. M., Janssen, A. F. W., Linnemann, A. R., Van Boekel, M. A. J. S., Beumer, R. R., & Zwietering, M. H. (2007). Number of *Salmonella* on chicken breast filet at retail level and its implications for public health risk. *Journal of Food Protection*, 70(9), 2045–2055. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-70.9.2045>
- Sturm, A., Heinemann, M., Arnoldini, M., Benecke, A., Ackermann, M., Benz, M., ... Hardt, W. D. (2011). The cost of virulence: Retarded growth of *Salmonella* Typhimurium cells expressing type III secretion system 1. *PLoS Pathogens*, 7(7), 1–10. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002143>
- Swart, A. N., van Leusden, F., & Nauta, M. J. (2016). A QMRA model for *Salmonella*

- in pork products during preparation and consumption. *Risk Analysis*, 36(3), 516–530. <https://doi.org/10.1111/risa.12522>
- Szczawiński, J., Szczawińska, M. E., Łobacz, A., & Jackowska-Tracz, A. (2014). Modeling the effect of temperature on survival rate of *Salmonella* Enteritidis in yogurt. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 17(3), 479–485. <https://doi.org/10.2478/pjvs-2014-0069>
- Talavera, M., Jorge, R., Varela, A., Nydia, G., Reyes, E., & Bernabé, S. L. (2011). Resistencia antibiótica de genotipos de cepas de. 42(4), 269–276.
- Terpstra, M. J., Steenbekkers, L. P. A., De Maertelaere, N. C. M., & Nijhuis, S. (2005). Food storage and disposal: Consumer practices and knowledge. *British Food Journal*, 107(7), 526–533. <https://doi.org/10.1108/00070700510606918>
- Teunis, P. F. M., Kasuga, F., Fazil, A., Ogden, I. D., Rotariu, O., & Strachan, N. J. C. (2010). Dose-response modeling of *Salmonella* using outbreak data. *International Journal of Food Microbiology*, 144(2), 243–249. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.09.026>
- Tirado, C., & Schmidt, K. (2001). WHO surveillance programme for control of foodborne infections and intoxications: Preliminary results and trends across greater Europe. *Journal of Infection*, 43(1), 80–84. <https://doi.org/10.1053/jinf.2001.0861>
- Torres-Vitela, M. del R., Mendoza-Bernardo, M., Castro-Rosas, J., Gomez-Aldapa, C. A., Garay-Martinez, L. E., Navarro-Hidalgo, V., & Villarruel-López., A. (2012). Incidence of *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157 : H7, and staphylococcal enterotoxin in two types of mexican fresh cheeses. *Journal of Food Protection*, 75(1), 79–84. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-11-258>
- Torres-Vitela, Maria Refugio, Navarro Hidalgo, V., Villaruel Lopez, A., & Olea Rodriguez, M. de los angeles. (2011). Prevalencia de *Salmonella* y *Staphylococcus aureus* en chorizo y longaniza. *Nacameh*, 5(2007–0373), S96–S107.
- Towns, R. E., Cullen, R. W., Memken, J. A., & Nnakwe, N. E. (2006). Food safety-related refrigeration and freezer practices and attitudes of consumers in Peoria

- and surrounding counties. *Journal of Food Protection*, 69(7), 1640–1645. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-69.7.1640>
- Trkov, M., & Avgustin, G. (2003). An improved 16S rRNA based PCR method for the specific detection of *Salmonella enterica*. *International Journal of Food Microbiology*, 80, 67–75. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(02\)00138-1](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(02)00138-1)
- Tromp, S. O., Rijgersberg, H., & Franz, E. (2010). Quantitative microbial risk assessment for *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella enterica*, and *Listeria monocytogenes* in leafy green vegetables consumed at salad bars, based on modeling supply chain logistics. *Journal of Food Protection*, 73(10), 1830–1840. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-73.10.1830>
- Tsai, C. N., & Coombes, B. K. (2019). The role of the host in driving phenotypic heterogeneity in *Salmonella*. *Trends in Microbiology*, 27(6), 508–523. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2019.01.004>
- USDA/FDA. (2013). outbreaks - FDA investigation summary - multistate outbreak of *Salmonella* Braenderup infections associated with mangoes. Retrieved from <http://wayback.archive-it.org/7993/20171114154935/https://www.fda.gov/Food/RecallsOutbreaksEmergencies/Outbreaks/ucm317337.htm>
- USDA/FSIS, & USEPA. (2012). *Microbial Risk Assessment Guideline: Pathogenic Microorganisms with Focus on Food and Water*. (October 2010), 207. <https://doi.org/EPA/100/J-12/001>
- Vandamm, J. P., Li, D., Harris, L. J., Schaffner, D. W., & Danyluk, M. D. (2013). Fate of *Escherichia coli* O157: H7, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella* on fresh-cut celery. *Food Microbiology*, 34(1), 151–157. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2012.11.016>
- Vestby, L. K., Møretrø, T., Langsrud, S., Heir, E., & Nesse, L. L. (2009). Biofilm forming abilities of *Salmonella* are correlated with persistence in fish meal- and feed factories. *BMC Veterinary Research*, 5, 1–6. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-5-20>
- Villalpando-Guzmán, S., Vázquez-Quiñones, C. R., Natividad-Bonifacio, I., Curiel-Quesada, Everardo Quiñones-Ramírez, E. I., & Vázquez-Salinas, C. (2017b).

- Frecuencia, susceptibilidad antimicrobiana y patrón de adherencia de *Salmonella enterica* aislada de carne de pollo, res y cerdo de la Ciudad de México. *Rev Chilena Infectol*, 34(5), 458–466.
- Vincent, A. T., Derome, N., Boyle, B., Culley, A. I., & Charette, S. J. (2017). Next-generation sequencing (NGS) in the microbiological world: How to make the most of your money. *Journal of Microbiological Methods*, 138, 60–71. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2016.02.016>
- Vital, P. G., Dimasuay, K. G. B., Widmer, K. W., & Rivera, W. L. (2014). Microbiological quality of fresh produce from open air markets and supermarkets in the Philippines. *Scientific World Journal*, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/219534>
- Vose, D. J. (2008). *Risk Analysis: A Quantitative Guide* (3rd Edition). Chichester, England: John Wiley and Sons Ltd.
- Wagner, C., & Hensel, M. (2011). Adhesive mechanisms of salmonella enterica. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 715, 17–34. [https://doi.org/10.1007/978-94-007-0940-9\\_2](https://doi.org/10.1007/978-94-007-0940-9_2)
- Wallis, T. S., & Galyov, E. E. (2000). Molecular basis of *Salmonella*-induced enteritis. *Molecular Microbiology*, 36(5), 997–1005.
- Wang, H., Ye, K., Wei, X., Cao, J., Xu, X., & Zhou, G. (2013). Occurrence, antimicrobial resistance and biofilm formation of *Salmonella* isolates from a chicken slaughter plant in China. *Food Control*, 33(2), 378–384. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.03.030>
- Wang, J., Wu, H., Song, M., Li, F., Zhu, J., Xi, M., ... Cui, S. (2013). Prevalence and quantitative detection of *Salmonella* in retail raw chicken in shaanxi, China. *Journal of Food Protection*, 76(11), 1958–1962. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-13-168>
- Wang, Y., Chen, Q., Cui, S., Xu, X., Zhu, J., Luo, H., ... Li, F. (2014). Enumeration and characterization of *Salmonella* isolates from retail chicken carcasses in Beijing, China. *Foodborne Pathogens and Disease*, 11(2), 126–132. <https://doi.org/10.1089/fpd.2013.1586>
- Wen, S. C. H., Best, E., & Nourse, C. (2017). Non-typhoidal *Salmonella* infections in

- children: Review of literature and recommendations for management. *Journal of Paediatrics and Child Health*, 53(10), 936–941. <https://doi.org/10.1111/jpc.13585>
- WHO. (2014). Antimicrobial resistance. Global report on surveillance. *Bulletin of the World Health Organization*, 61(3), 383–394. <https://doi.org/10.1007/s13312-014-0374-3>
- WHO. (2015a). FoodborneDiseaseBurden. Retrieved July 19, 2018, from [https://extranet.who.int/sree/Reports?op=vs&path=/WHO\\_HQ\\_Reports/G36/P ROD/EXT/FoodborneDiseaseBurden](https://extranet.who.int/sree/Reports?op=vs&path=/WHO_HQ_Reports/G36/P ROD/EXT/FoodborneDiseaseBurden)
- WHO. (2015b). WHO estimates of the global burden of foodborne diseases. In *World Health Organization*. Retrieved from [http://www.who.int/foodsafety/publications/foodborne\\_disease/fergreport/en/](http://www.who.int/foodsafety/publications/foodborne_disease/fergreport/en/)
- WHO. (2017). OMS | *Salmonella (no. tifoidea)*. Retrieved from <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs139/es/>
- Wijnands, L. M., Teunis, P. F. M., & Kuijpers, A. F. A. (2017). Quantification of *Salmonella* survival and infection in an in vitro model of the human intestinal tract as proxy for foodborne pathogens. *Frontiers in microbiology*, 8, 1139. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01139>
- Pielat, A. (2017). Quantification of *Salmonella* survival and infection in an in vitro model of the human intestinal tract as proxy for foodborne pathogens. *Frontiers in Microbiology*, 8(June), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01139>
- Wood, M. W., Rosqvist, R., Mullan, P. B., Edwards, M. H., & Galyov, E. E. (1996). *SopE*, a secreted protein of *Salmonella* Dublin, is translocated into the target eukaryotic cell via a sip-dependent mechanism and promotes bacterial entry. *Molecular Microbiology*, 22(2), 327–338. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.1996.00116.x>
- Xu, H., Lee, H. Y., & Ahn, J. (2008). Cross-protective effect of acid-adapted *Salmonella enterica* on resistance to lethal acid and cold stress conditions. *Letters in Applied Microbiology*, 47(4), 290–297. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2008.02429.x>
- Yang, X., Wu, Q., Huang, J., Wu, S., Zhang, J., Chen, L., ... Zhang, Y. (2020).

- Prevalence and characterization of *Salmonella* isolated from raw vegetables in China. *Food Control*, 109(100). <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106915>
- Yang, X., Wu, Q., Zhang, J., Huang, J., Chen, L., Liu, S., ... Cai, S. (2015). Prevalence, enumeration, and characterization of *Salmonella* isolated from aquatic food products from retail markets in China. *Food Control*, 57, 308–313. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.03.046>
- Yeung, R. M. W., & Morris, J. (2001). Consumer perception of food risk in chicken meat. *Nutrition & Food Science*, 31(6), 270–279. <https://doi.org/10.1108/00346650110409092>
- Yu, C., Du, F., Zhang, C., Li, Y., Liao, C., He, L., ... Zhang, X. (2020). *Salmonella enterica* serovar Typhimurium sseK3 induces apoptosis and enhances glycolysis in macrophages. *BMC Microbiology*, 20(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/s12866-020-01838-z>
- Yuk, H. G., & Schneider, K. R. (2006). Adaptation of *Salmonella* spp. in juice stored under refrigerated and room temperature enhances acid resistance to simulated gastric fluid. *Food Microbiology*, 23(7), 694–700. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2005.12.003>
- Zadernowska, A., & Chajęcka-Wierzchowska, W. (2017). Prevalence, biofilm formation and virulence markers of *Salmonella* sp. and *Yersinia enterocolitica* in food of animal origin in Poland. *LWT - Food Science and Technology*, 75, 552–556. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.10.007>
- Zaher, S. M., & Fujikawa, H. (2011). Effect of native microflora on the growth kinetics of *Salmonella* Enteritidis strain 04-137 in raw ground chicken. *Journal of Food Protection*, 74(5), 735–742. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-10-334>
- Zaidi, M. B., McDermott, P., Fedorka-Cray, P., Leon, V., Canche, C., Hubert, S., ... Tollefson, L. (2006). Nontyphoidal *Salmonella* from Human Clinical Cases, Asymptomatic Children, and Raw Retail Meats in Yucatan, Mexico. *Clinical Infectious Diseases*, 42(1), 21–28. <https://doi.org/10.1086/498508>
- Zaidi, M. B., TeresaEstrada-García, Campos, F., Chim, R., Arjona, F., Leon, M., ... Chaussabel, D. (2013). Incidence , clinical presentation , and antimicrobial resistance trends in *Salmonella* and *Shigella* infections from children in Yucatan , Mexico. *Clinical Infectious Diseases*, 4(October), 1–10.

<https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00288>

- Zakaria, Z., Hassan, L., Sharif, Z., Ahmad, N., Ali, R. M., Husin, S. A., ... Garba, B. (2020). Analysis of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis isolates from chickens and chicken meat products in Malaysia using PFGE, and MLST. *BMC Veterinary Research*, *16*(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/s12917-020-02605-y>
- Zankari, E., Allesøe, R., Joensen, K. G., Cavaco, L. M., Lund, O., & Aarestrup, F. M. (2017). PointFinder: A novel web tool for WGS-based detection of antimicrobial resistance associated with chromosomal point mutations in bacterial pathogens. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, *72*(10), 2764–2768. <https://doi.org/10.1093/jac/dkx217>
- Zelner, J. L., King, A. A., Moe, C. L., & Eisenberg, J. N. S. (2010). How infections propagate after point-source outbreaks: An analysis of secondary norovirus transmission. *Epidemiology*, *21*(5), 711–718. <https://doi.org/10.1097/EDE.0b013e3181e5463a>
- Zhang, C. Z., Ren, S. Q., Chang, M. X., Chen, P. X., Ding, H. Z., & Jiang, H. X. (2017). Resistance mechanisms and fitness of *Salmonella* Typhimurium and *Salmonella* Enteritidis mutants evolved under selection with ciprofloxacin in vitro. *Scientific Reports*, *7*(1), 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-09151-y>
- Zhang, Q., Sahin, O., McDermott, P. F., & Payot, S. (2006). Fitness of antimicrobial-resistant *Campylobacter* and *Salmonella*. *Microbes and Infection*, *8*(7), 1972–1978. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2005.12.031>
- Zhang, Y., Bi, P., & Hiller, J. E. (2010). Climate variations and *Salmonella* infection in Australian subtropical and tropical regions. *Science of the Total Environment*, *408*(3), 524–530. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2009.10.068>
- Zhou, S., Sheen, S., Pang, Y. H., Liu, L., & Yam, K. L. (2015). Modeling the impact of vapor thymol concentration, temperature, and modified atmosphere condition on growth behavior of *Salmonella* on raw shrimp. *Journal of Food Protection*, *78*(2), 293–301. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-14-264>
- Zhu, J., Bai, Y., Wang, Y., Song, X., Cui, S., Xu, H., ... Li, F. (2017). A risk assessment of salmonellosis linked to chicken meals prepared in households of China. *Food Control*, *79*, 279–287.

<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.04.003>

Zhu, J., Wang, Y., Song, X., Cui, S., Xu, H., Yang, B., ... Li, F. (2014). Prevalence and quantification of *Salmonella* contamination in raw chicken carcasses at the retail in China. *Food Control*, 44, 198–202.

<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.03.050>

Ziech, R. E., Perin, A. P., Lampugnani, C., Sereno, M. J., Viana, C., Soares, V. M., ... Bersot, L. dos S. (2016). Biofilm-producing ability and tolerance to industrial sanitizers in *Salmonella* spp. Isolated from Brazilian poultry processing plants. *LWT - Food Science and Technology*, 68, 85–90.

<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.12.021>

Dirección General de Bibliotecas UAQ

## 10 APÉNDICES

### 10.1 Apéndice 1: Encuesta

#### Primera sección: Información demográfica

1) Sexo

2) Edad

3) Ocupación

4) Estado de residencia

5) ¿Padeces alguna enfermedad gastrointestinal?

(a) *Si*, (b) *No*, (c) *No sé*

6) ¿Cuál? (Se puede seleccionar más de una)

(a) *No padezco ninguna enfermedad gastrointestinal*, (b) *Gastritis*, (c)

*Reflujo gástrico* (d) *Colitis*, (e) *Estreñimiento* (f) *Otra*

7) ¿Padeces alguna enfermedad crónico-degenerativa?

(a) *No padezco ninguna enfermedad crónico-degenerativa*, (b) *Diabetes* (c)

*Cáncer* (d) *Hipertensión* (e) *Obesidad* (f) *Otra*

#### Segunda sección: Hábitos de consumo de alimentos

##### Consumo de carne:

1) ¿Consumes carne?

(a) *Sí*, (b) *No* (*Sí la respuesta era sí podía continuar contestando*)

2) ¿Qué tipo de carne prefieres consumir?

(a) *Carne de cerdo*, (b) *Carne de pavo*, (c) *Carne de pollo*, (d) *Carne de res*

3) ¿Cuántos días a la semana consumes cada tipo de carne? (*Para cada*

*tipo de carne*)

(a) *0*, (b) *1*, (c) *2*, (d) *3*, (e) *4*, (f) *5*, (g) *6*, (h) *7*

4) ¿Cuántas porciones consumes regularmente de estos tipos de carne en un día? *(Una porción de carne es alrededor de 150 g (equivalente a una pieza de carne para hamburguesa, una pechuga de pollo sin hueso, un bistec ó una pieza de carne)*

*(a) 0, (b)1, (c)2, (d) 3 o más*

5) ¿Cómo compras la carne regularmente? *(Posible más de una opción)*

*(a) En fresco, (b) Molida, (c) Marinada, (d) Precocida, (e) Cocinada, (f)*

*Congelada, (h) No compro*

6) ¿Cómo preparas la carne para consumirla? *(Posible más de una opción)*

*(a) Al horno, (b)Asada, (c)Empanizada, (d)Frita, (e) Frita, (f)Hervida, (g) No*

*consumo*

7) ¿La carne de res, a qué termino la consumes regularmente? *(Se*

*muestra imagen)*

*(a)Rojo inglés, (b)Medio, (c)Tres cuartos, (d)Bien cocido, (e)No consumo*

*carne de res*

### **Consumo de embutidos**

1) ¿Consumes embutidos?

*(a)Sí, (b)No (Sí la respuesta era sí podía continuar contestando)*

2) ¿Cuál es el embutido que más consumes?

*(a)Chorizo, (b)Jamón, (c)Salchicha, (d)Tocio*

3) ¿Cuántos días a la semana consumes estos embutidos? *(Para cada tipo de embutido)*

*(a) 0, (b) 1, (c) 2, (d) 3, (c) 4, (d) 5, (e) 6, (f) 7*

4) ¿Cuántas porciones consumes regularmente de estos tipos de carne en un día? *(Una porción = Unidad de chorizo (100 g), una rebanada de jamón (25 g), una salchicha (40 g) o una tira de tocino (20 g))*

*(a) 0, (b) 1, (c) 2, (d) 3, (e) 4 o más*

5) ¿Cómo consumes los embutidos regularmente? *(Posible más de una opción)*

*(a) Del empaque (sin tratamiento), (b) Asado/cocinado, (c) En guiso, (d) No consumo*

### **Consumo de frutas y hortalizas**

1) ¿Consumes frutas y hortalizas?

*(a) Sí, (b) No (Sí la respuesta era sí podía continuar contestando)*

2) ¿Cuántos días a la semana consumes frutas y hortalizas? *(Para frutas o hortalizas)*

*(a) 0, (b) 1, (c) 2, (d) 3, (e) 4, (f) 5, (g) 6, (h) 7*

3) ¿Cuántas porciones consumes regularmente de frutas y hortalizas en un día? *(Una porción: Una taza de frutas frescas (150 g) 1/2 taza de frutas secas (50 g), un manojo de hortalizas de hoja (40 g) ó una taza de hortalizas (150 g)) (Para frutas cítricas, de semilla, tropicales, frutillas, frutas secas, hortalizas de raíz, hortalizas de hoja, hortalizas de inflorescencia, hortalizas de fruta – Se colocaron ejemplos de las frutas y hortalizas más representativas)*

*(a) 0, (b) 1, (c) 2, (d) 3, (e) 4, (f) 5 o más*

4) ¿Cómo consumes las frutas y hortalizas regularmente? *(Posible más de una opción)*

(a) Lavadas, (b) Desinfectadas, (c) Crudas, (d) Hervidas (e) A la plancha, (d)

Al vapor, (e) Deshidratadas

### **Consumo de lácteos**

1) ¿Consumes productos lácteos?

(a) Sí, (b) No (Sí la respuesta era sí podía continuar contestando)

2) ¿Qué producto lácteo consumes más?

(a) Leche, (b) Crema, (c) Queso, (d) Yogurt

3) ¿Cuántos días a la semana consumes estos productos lácteos? (Para cada producto lácteo)

(a) 0, (b) 1, (c) 2, (d) 3, (e) 4, (f) 5, (g) 6, (h) 7

4) ¿Cuántas porciones consumes regularmente productos lácteos en un día? (Una porción= Un vaso de leche o yogurt (250 mL), dos cucharadas de crema (30 g) o una pieza de queso (30 g)) (Para cada producto lácteo)

(a) 0, (b) 1, (c) 2, (d) 3 o más; 4) ¿Los productos lácteos que compras están pasteurizados? (Para cada producto lácteo)

(a) Sí, (b) No, (c) No sé

5) ¿Qué tipo de quesos consumes con mayor frecuencia?

(a) Frescos (no madurados), (b) Madurados

### **Consumo de pescados y mariscos**

1) ¿Consumes pescados y mariscos?

(a) Sí, (b) No (Sí la respuesta era sí podía continuar contestando)

2) ¿Cada cuánto consumes pescados y mariscos? (Para atún, camarón, mariscos de concha, filete de pescado)

(a) Más de una vez a la semana, (b) Una vez a la semana, (c) Dos veces a la semana, (d) Una vez al mes, (e) Menos de una vez al mes (f) No consumo

3) ¿Cuántas porciones consumes regularmente de estos pescados y mariscos en un día? (Una porción = lata de atún (100 g), taza de camarones o mariscos de concha (150 g o un filete de pescado (150 g)) (Para atún, camarón, mariscos de concha, filete de pescado)

(a) 0, (b) 1, (c) 2, (d) 3 o más

4) ¿Cómo compras estos pescados y mariscos? (Para atún, camarón, mariscos de concha, filete de pescado) (Posible más de una opción)

(a) Crudo, (b) Precocido, (c) Cocido, (d) Enlatado, (e) En salmuera, (f) Congelado, (g) No compro

5) ¿Cómo preparas los mariscos antes de consumir? (Para atún, camarón, mariscos de concha, filete de pescado) (Posible más de una opción)

(a) A la plancha, (b) Empanizado, (c) Frito, (d) Cocido, (e) Crudo, (f) Del envase, (g) No consumo

### **Tercera sección: Prácticas de manipulación de alimentos**

1) Una vez que compras los siguientes alimentos, ¿a qué temperatura los almacenas? (Para carnes, embutidos frutas y hortalizas, lácteos, pescados y mariscos)

(a) No los consumo, (b) No los almaceno, los consumo inmediatamente, (c) Refrigeración, (d) Congelación, (e) Temperatura ambiente

2) Una vez que compras los siguientes alimentos, ¿cuánto tiempo los almacenas? (Para carnes, embutidos frutas y hortalizas, lácteos, pescados y mariscos)

a) No los consumo, (b) No los almaceno, los consumo inmediatamente, (c) 1 día, (d) 2-3 días, (e) 4-5 días, (f) 6 a 7 días, (g) más de 7 días

3) ¿Sabes a qué temperatura se encuentra tu refrigerador? (Esta pregunta se retiró del análisis ya que no se especificaron las unidades de medida)

4) ¿Cada cuánto tiempo limpias tu refrigerador?

(a) Más de una vez a la semana, (b) Una vez a la semana, (c) Una vez cada quince días, (d) Una vez al mes, (e) Menos de una vez al mes

5) ¿Con qué frecuencia lavas la esponja y trapo de cocina que empleas para las superficies? (Para esponja o trapo de cocina)

(a) Más de una vez a la semana, (b) Una vez a la semana, (c) Una vez cada quince días, (d) Una vez al mes, (e) Menos de una vez al mes

6) Cuando empleas cuchillo y tabla para picar algún alimento, y los necesitas para picar otro diferente, ¿qué haces? (Para tabla de picar o cuchillo)

(a) Uso el mismo, (b) Uso uno limpio, (c) Lo enjuago con agua, (d) Lo lavo;

7) ¿Cuándo preparas alimentos te lavas y desinfectas las mano? (Para lavar y desinfectar)

(a) Siempre, (b) Casi siempre, (c) Algunas veces, (d) Rara vez, (e) Nunca

#### **Cuarta sección: Percepción de ETAs y salmonelosis**

1) ¿Alguna vez te has enfermado por el consumo de algún alimento?

(a) Sí, (b) No, (c) No sé

2) ¿Alguna vez te ha dado salmonelosis?

(a) Sí, (b) No, (c) No sé (Sí la respuesta era sí podía continuar contestando);

3) ¿Cuántas veces te ha dado salmonelosis?

(a) 1, (b) 2, (c) 3, (d) más de 3

4) ¿Cuándo te dio salmonelosis? *(Posible más de una opción)*

*(a) 2017 (b) 2016, (c) 2015, (d) Antes del 2015 (A partir de enero del 2018*

*se anexo la respuesta a)*

5) ¿Por qué tipo de alimento crees que te enfermaste de salmonelosis?

*(Posible más de una opción)*

*(a) Carne, (b) Productos cárnicos, (c) Frutas y hortalizas, (d) Productos*

*lácteos, (e) Pescados y mariscos*

Dirección General de Bibliotecas UJAQ

## 10.2 Apéndice 2. Información utilizada para generar modelos secundarios de desarrollo

Producto	Características
Tocino	Debido a la falta de información, se utilizaron datos de modelos primarios de alimentos subrogados. Para seleccionar el mejor modelo secundario de tasa de crecimiento secundario, se comparó la estimación de la tasa de crecimiento a 16 ° C, con los únicos datos disponibles de <i>Salmonella</i> en tocino (0.033 h <sup>-1</sup> a 16 ° C) (Combase <a href="http://www.combase.cc">www.combase.cc</a> ; Farrell y Upton, 1978). El mejor modelo de tasa de crecimiento secundario sustituto se obtuvo utilizando datos del modelo primario de chuleta de cerdo (23 ° C, 10 ° C y 7.2 ° C) (Swart et al., 2016), con una
Frutas de semillas	La pera fue el alimento seleccionado de los productos de frutos de semilla. Datos a 8 ° C, 12 ° C y 20 ° C del comportamiento de <i>Salmonella</i> en pera se extrajeron de la Figura 1 publicada, un gráfico publicado por Graça, Santo, Quintas, y Nunes, (2017).
Hortalizas de inflorescencia	El potencial de crecimiento de <i>Salmonella</i> en yakisoba (compuesto por coliflor, zanahoria, brócoli, repollo y acelga), a 7 ° C, 12 ° C [promedio de temperatura dinámica 7 ° C (30%) y 15 ° C (70%)], y 15 ° C se utilizaron para estimar la tasa de crecimiento a cada temperatura, dividiendo el potencial de crecimiento entre la vida útil (6 días) (Sant'Ana, Barbosa, Destro, Landgraf, & Franco, 2012).
Crema	Datos de ComBase a 7.9 ° C (ID: O140_7, ID: O140_8) y 12 ° C (ID: O140_5, O140_6) del comportamiento de <i>Salmonella</i> en crema agria donados por la Agencia de Normas Alimentarias del Reino Unido
Leche	Datos de Combase a 7 ° C (ID: L107) y 15 ° C (ID: CA_1195, CA_1204, CA_CA122) del comportamiento de <i>Salmonella</i> en leche y la fórmula infantil hidratada con leche (Abushelaibi, Sofos, Samelis, & Kendall, 2003; Bovill, Bew, & Baranyi, 2001)
Queso	Los datos publicados a 10 ° C, 15 ° C y 20 ° C del comportamiento de <i>Salmonella</i> en queso mozzarella artesanal de búfalo (Serraino et al., 2012).
Pescado	Graficar los datos publicados (extraídos con el software Data Thief 3.0 ( <a href="http://datathief.org/">http://datathief.org/</a> ) del comportamiento de <i>Salmonella</i> en gopa (Nychas & Tassou, 1996), tilapia (Lu & Cai, 2010), y salmón (Xu et al., 2018) entre 10°C y 25°C .

### 10.3 Apéndice 3. Peso de la porción

Edad	Peso de la porción	Procentaje de la población	Acumulado
< 5 años	27.8 g	7.6	0.076
5 a 14 años	69.5 g	8.2	0.158
> 65 años	100 g	8.4	0.242
	150 g	0.668	0.748
15 a 65 años	300 g	0.279	0.960
	450 g	0.053	1.000

Los datos de 15 a 65 años fueron obtenidos en este estudio, y datos sobre las diferentes edades fueron recabadas con un nutriólogo

### 10.4 Apéndice 4. Frecuencia de consume de pollo

Frecuencia de consume de carnes no procesadas (incluye pollo)						
Edad	Centro	Cd. México	Promedio	% Población	Frecuencia de consume *	% población
0 a 4	31.4	52.9	42.15	7.6	0.03	
5 a 9	36.9	43.9	40.4	8.2	0.03	
10 a 19	48.2	61.7	54.95	16.8	0.09	
Más de 20	61	75.6	68.3	67.5	0.46	
		Frecuencia total			0.62	

Obtenido con información de ENSANUT 2018 (Shamah-Levy et al., 2020), y la población del centro de México del 2020 (INEGI, 2020). Población total; 56181482

### 10.5 Apéndice 5. Frecuencia de consume de pollo a la semana por porción

Frecuencia a la semana	Porciones			Suma	Proporción	Acumulativa
	1	2	3			
1	197	39	2	238	0.214	0.214
2	315	156	18	489	0.439	0.653
3	157	73	21	251	0.225	0.878
4	51	27	9	87	0.078	0.956
5	19	7	4	30	0.027	0.983
6	4	6	4	14	0.013	0.996
7	1	3	1	5	0.004	1.000
Total	744	311	59	1114	1	
Proporción	0.668	0.279	0.053			

Una porción =150 g