

Evaluación del comportamiento de *Listeria monocytogenes* en la corteza y cortes frescos de pimientos verdes morrones y melones

Erika Yomalli Mera Cruz

Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano

Honduras

Noviembre, 2018

ZAMORANO
CARRERA DE AGROINDUSTRIA ALIMENTARIA

Evaluación del comportamiento de *Listeria monocytogenes* en la corteza y cortes frescos de pimientos verdes morrones y melones

Proyecto especial de graduación presentado como requisito parcial para optar al título de Ingeniera en Agroindustria Alimentaria en el Grado Académico de Licenciatura

Presentado por

Erika Yomalli Mera Cruz

Zamorano, Honduras

Noviembre, 2018

Evaluación del comportamiento de *Listeria monocytogenes* en la corteza y cortes frescos de pimientos verdes morrones y melones

Erika Yomalli Mera Cruz

Resumen. Las frutas frescas son mínimamente procesadas, esto significa que los controles microbiológicos que se realizan son escasos; siendo *Listeria monocytogenes* un riesgo de contaminación en estos tipos de alimentos debido a que se encuentra en el ambiente. El objetivo de este estudio fue evaluar el comportamiento de *Listeria monocytogenes* en la corteza y cortes frescos de melones y pimientos verdes morrones. Se usaron dos niveles de inóculo (10^4 y 10^6 UFC/ml) para cada una de las muestras: Cortes frescos de melón, corteza de melón, cortes frescos de pimiento y corteza de pimiento. Las cortezas fueron expresadas en log UFC/cm² y los cortes frescos en log UFC/g. Los recuentos se realizaron a los 0, 1, 2, 4, 6 y 8 días para las muestras de melón: corteza (almacenada a 24 °C) y cortes frescos (almacenados a 4 °C). La corteza de pimiento verde morrón fue analizada a los 0, 1, 2, 6, 10, 14 días, y los cortes frescos a los 0, 1, 2, 4 y 6 días, ambos fueron almacenados a 4 °C. *Listeria monocytogenes* no presentó crecimiento durante los días en cada uno de los tratamientos ($P < 0.05$), es decir que a 4 °C este patógeno puede sobrevivir en la corteza y en cortes frescos del pimiento durante 14 días y seis días, respectivamente. En melones puede sobrevivir durante ocho días almacenado a 24 °C (corteza) y a 4 °C (cortes frescos). *Listeria monocytogenes* puede permanecer viable durante los tiempos mencionados, representando un peligro potencial para la salud.

Palabras clave: Ácido nalidíxico, frutas frescas, patógeno.

Abstract. Fresh fruits are minimally processed, this mean that the microbiological control which they are subjected are little; being *Listeria monocytogenes* a contamination risk for this food type because it is present in the environment. The objective of this study was to evaluate the behavior of *Listeria monocytogenes* in cantaloupes and green bell peppers whole and fresh cuts of each one. Two levels of inoculum (10^4 and 10^6 CFU/ml) were used for each of the samples: Cantaloupe fresh-cuts, Cantaloupe rind, Green bell pepper fresh cuts and Green bell pepper rind. The rinds were expressed in log CFU/cm² and the fresh cuts in Log CFU/g. The counts were made at 0, 1, 2, 4, 6 and 8 days for the cantaloupe samples: rind (stored at 24 °C) and fresh cuts (stored at 4 °C). The green bell pepper rind was analyzed at 0, 1, 2, 6, 10, 14 days, and the fresh cuts at 0, 1, 2, 4 and 6 days, both were stored at 4 °C. There was not presence of *Listeria monocytogenes* during the days in the treatments mentioned before ($P < 0.05$). This means, that the pathogen can survive in the green bell pepper rind and fresh-cut stored at 4 °C for 14 and six days, respectively. In cantaloupes, it can survive during eight days stored at 24 °C (rind) and 4 °C (fresh-cuts). Therefore, *Listeria monocytogenes* can remain viable during mentioned times, representing a potential risk for consumers' health.

Key words: Fresh fruits, nalidixic acid, pathogen.

CONTENIDO

Portadilla	i
Página de firmas.....	ii
Resumen.....	iii
Contenido	iv
Índice de Cuadros y Anexos	v
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	3
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	6
4. CONCLUSIONES	13
5. RECOMENDACIONES	14
6. LITERATURA CITADA.....	15
7. ANEXOS	19

ÍNDICE DE CUADROS Y ANEXOS

Cuadros	Página
1. Recuento de <i>Listeria monocytogenes</i> (Log UFC/g) en cortes frescos de pimiento verde morrón almacenado a 4 °C.	6
2. Recuentos de <i>Listeria monocytogenes</i> (Log UFC/cm ²) en la corteza del pimiento verde morrón almacenado a 4 °C.	7
3. Recuento de <i>Listeria monocytogenes</i> (Log UFC/g) en cortes frescos de pulpa de melón a almacenado a 4 °C.	8
4. Recuento de <i>Listeria monocytogenes</i> (Log UFC/cm ²) en la corteza de melón a 24 °C.	9
5. Determinación de la tasa máxima de crecimiento y la fase de latencia o lag de <i>Listeria monocytogenes</i> en pimiento verde morrón.	10
6. Determinación de la tasa máxima de crecimiento y la fase de latencia o lag de <i>Listeria monocytogenes</i> en melón.	11
Anexos	Página
1. Cuadros de salida de análisis estadístico SAS 9.4.	19
2. Gráfica de comportamiento de <i>Listeria monocytogenes</i> en cortes frescos de pimiento verde morrón (inóculo alto) almacenado a 4 °C.	20
3. Gráfica de comportamiento de <i>Listeria monocytogenes</i> en cortes frescos de pimiento verde morrón (inóculo bajo) almacenado a 4 °C.	20
4. Gráfica de comportamiento de <i>Listeria monocytogenes</i> en corteza de pimiento verde morrón (inóculo alto) almacenado a 4 °C.	21
5. Gráfica de comportamiento de <i>Listeria monocytogenes</i> en corteza de pimiento verde morrón (inóculo bajo) almacenado a 4 °C.	21
6. Gráfica de comportamiento de <i>Listeria monocytogenes</i> en cortes frescos de melón (inóculo alto) almacenado a 4 °C.	22
7. Gráfica de comportamiento de <i>Listeria monocytogenes</i> en cortes frescos de melón (inóculo bajo) almacenado a 4 °C.	22
8. Gráfica de comportamiento de <i>Listeria monocytogenes</i> en corteza de melón (inóculo alto) almacenado a 24 °C.	23
9. Gráfica de comportamiento de <i>Listeria monocytogenes</i> en corteza de melón (inóculo bajo) almacenado a 24 °C.	23

1. INTRODUCCIÓN

Los melones y el pimiento morrón están entre las frutas más vendidas en los Estados Unidos. Lo cual se ve reflejado en las 7.63 billones de libras de melones que fueron consumidas en el 2015 en Estados Unidos, representando un incremento del 5% del consumo a partir del 2014 (Gordon 2016). Así mismo, el pimiento morrón es muy consumido en los Estados Unidos que, aunque se produzca allí, el consumo supera la producción por lo cual la importación del mismo es de gran importancia. En 2012 se importaron 1931.2 millones de libras de pimientos (USDA 2013). Estos productos son mínimamente procesados ya sean vendidos enteros o en cortes frescos, lo que significa que los controles microbiológicos durante el procesamiento son mínimos. Esto puede llevar a la contaminación de diferentes tipos de microorganismo patógenos en la superficie del producto, ya que ésta puede ocurrir en diferentes etapas de la producción o el procesamiento de las frutas (Paramithiotis *et al.* 2017). La corteza de las frutas y vegetales muchas veces puede estar expuesta al suelo, agua de irrigación, ambiente en las plantas de empaque, la superficie de los vehículos de transporte, manos de los trabajadores, o incluso insectos (Fang *et al.* 2013) que pueden ser fuentes de contaminación.

Las bacterias pueden ser transferidas desde la superficie externa de la fruta a las porciones comestibles durante el corte. Además, los productos recién cortados pueden volver a contaminarse debido a la contaminación cruzada y el manejo inadecuado durante la distribución y en los puntos de venta como en supermercados por la inadecuada desinfección de las superficies (Fang *et al.* 2013). Los microorganismos presentan severos problemas en las industrias de frutas y vegetales. La descomposición causada por las bacterias deterioradoras puede resultar en pérdidas económicas y problemas de salud humana. La presencia y/o crecimiento de microorganismos patógenos en estos productos también pueden significar grandes pérdidas económicas, debido a los retiros (Paramithiotis *et al.* 2017).

Los retiros en frutas frescas comúnmente están asociados con *L. monocytogenes* y *Salmonella serovar*. Para el 2017, se reportaron tres retiros representando un 2.6% en base a todos los alimentos (Paramithiotis *et al.* 2017). En 2013 fueron reportados 1591 casos, 1455 hospitalizaciones y 255 muertes causados por *L. monocytogenes*, lo cual significó un costo de \$2,834 millones (USDA 2014, Hoffmann *et al.* 2015). Muchos de las brotes y enfermedades causadas por el consumo de verduras o frutas contaminadas con patógenos son causados por *Listeria monocytogenes* (Doyle 1990), como se ha venido desarrollando un brote de listeriosis causado por consumo de melones para exportación contaminados en Australia desde enero 2018 con aproximadamente 20 personas reportadas y 7 muertes (WHO 2018).

Listeria monocytogenes es una de las bacterias que puede llegar a contaminar los productos, esta es una bacteria patógena Gram positiva que naturalmente se encuentra en ambientes agrícolas como el suelo y agua. Además, puede sobrevivir en una amplia variedad de superficies y crecer bajo temperaturas de refrigeración cercanas a la congelación debido a que es una bacteria psicrófila (Hoffmann *et al.* 2015). *Listeria monocytogenes* puede crecer dentro de un rango de temperatura amplio (de 1 a 44 °C), siendo su temperatura óptima de entre 30 a 37 °C, también es resistente a niveles de pH bajos como el pH del estómago (pH= 2.0), lo cual resulta en una alta capacidad de sobrevivir y crecer en muchos ambientes y productos alimenticios (Zhang 2015). Adicionalmente, *L. monocytogenes* se divide en 13 serogrupos dentro de los cuales 4b es el serotipo predominantemente aislado de brotes de listeriosis humana transmitida por los alimentos en Estados Unidos (Fang *et al.* 2013). Basado en esto, *L. monocytogenes* es una real preocupación para la población y más para los grupos de personas inmunocomprometidas como ancianos, mujeres embarazadas, recién nacidos y adultos con sistema inmune comprometido (Hoffmann *et al.* 2015).

Las investigaciones sobre el comportamiento de patógenos específicamente en distintas superficies son de gran relevancia, ya que aportan datos científicos que ayudan a establecer criterios microbiológicos para asegurar la disponibilidad de alimentos inocuos que promuevan la seguridad alimentaria. La disponibilidad de alimentos inocuos es un punto importante para el desarrollo de la cadena alimentaria y para la salud de la población. De manera que las personas tengan confianza en ingerir alimentos. Aunque, según estudios la percepción del riesgo a tox infecciones al consumir frutas y vegetales es decreciente con un 13% en comparación con otros alimentos, lo cual es contradictorio ya que estos productos son mínimamente procesados incrementando así la probabilidad de presencia de algún microorganismo que amenace la salud de los consumidores (Fang *et al.* 2013, Orihuel 2013).

En este estudio se evaluó el comportamiento de *Listeria monocytogenes* una vez contaminada en frutas y verduras durante su vida útil, con lo que fue posible deducir en qué medida ésta es un riesgo para los consumidores de melones y pimientos. Todo esto se debe a que los estudios sobre el crecimiento de *L. monocytogenes* en frutos poco ácidos son casi inexistentes (Penteado y Leitão 2003). Por lo tanto, los objetivos de esta investigación incluyen:

- Evaluar el comportamiento de *Listeria monocytogenes* en la superficie y cortes frescos de pimientos verdes morrones durante su almacenamiento.
- Evaluar el comportamiento de *Listeria monocytogenes* en la superficie y cortes frescos de melones durante su almacenamiento.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del estudio.

El estudio se llevó a cabo en las instalaciones del laboratorio de inocuidad de alimentos del centro de agricultura en el departamento de ciencia animal y alimentaria en la Universidad Estatal de Luisiana, Baton Rouge, Luisiana, Estados Unidos.

Frutas.

Los melones y los pimientos verdes fueron comprados en un centro de abastecimiento cercano a la universidad.

Descripción de los cultivos.

Las cepas de *Listeria monocytogenes* usadas en este estudio fueron: LCDC, V7 y 101M. Las cepas LCDC y Scott A normalmente están relacionadas con brotes en ensaladas pre empacadas, también asociadas con lechuga, apio y tomates (Berrang *et al.* 1989). En este caso, LCDC 81-861 (serotipo 4b) fue aislada de un brote asociado con repollo crudo. La cepa Scott A (serotipo 4b) y V7 (serotipo 1/2a) fueron obtenidas de un brote asociado con leche. La cepa 101M (serotipo 4b) fue aislada de un brote asociado con carne res (Pérez-Conesa *et al.* 2006).

Resistencia al ácido nalidíxico.

Todas las cepas de *L. monocytogenes* fueron sometidas a un procedimiento para convertirlas en resistentes al ácido nalidíxico. Para esto, 0.1 ml del inóculo puro fue transferido a un tubo de ensayo con 10 ml de caldo soya tripticaseína con extracto de levadura 0.6% (por sus siglas en inglés TSBYE) con ácido nalidíxico (50 µg/ml), e incubado a 37 °C durante 24 horas. Del tubo incubado se extrajo y se sembró por estría en un plato Petri con agar *Listeria* Oxford de Acumedia con ácido nalidíxico (50 µg/ml), se incubó a 37 °C por 24 horas. Se tomó una colonia aislada y se transfirió a un tubo con TSBYE con ácido nalidíxico y se incubó a 37 °C durante 24 horas. Se agregó 3 ml de glicerol al 30% cada uno de los tubos de ensayo, se homogenizó y se distribuyó 1 ml en cada vial, posteriormente los viales se almacenaron a -20 °C.

Activación del cultivo.

Un vial con cada uno de los cultivos puros de *Listeria monocytogenes* (LCDC, Scott A, V7 o 101 M) conservado en glicerina al 30% fue tomado y frotado entre las manos hasta su descongelamiento. Se transfirió 0.1 ml del cultivo puro a un tubo de ensayo con caldo soya tripticaseína con extracto de levadura 0.6% (por sus siglas en inglés TSBYE) con ácido

nalidíxico (50 µg/ml) para luego incubar durante 24 horas a 37 °C. Después, fue transferido 1 ml del tubo de ensayo antes incubado a un nuevo tubo de ensayo con 10 ml de TSBYE con ácido nalidíxico (50 µg/ml), se homogenizó en el vortex por 7 segundos e inmediatamente se incubó por 24 horas a 37 °C. La última transferencia se realizó tomando 0.1 ml del tubo antes incubado a un nuevo tubo de ensayo con TSBYE con ácido nalidíxico a la misma concentración. Luego, se homogenizó en el vortex durante 7 segundos y se incubó por 24 horas a 37 °C. Este proceso de activación fue realizado con cada uno de los cultivos puros resistentes al ácido nalidíxico mencionados en el principio.

Preparación del inóculo.

Fue transferido 10 ml de cada uno de los tubos de ensayo incubados con cada cepa de *Listeria monocytogenes* a un tubo de centrifuga (15 ml), para luego centrifugar usando Spectrafuge 6C a 6500 rpm por 5 min. Una vez terminado el ciclo de centrifugación se removió en el sobrenadante de cada uno de los tubos dejando el pellet intacto, luego se agregó 10 ml de Buffer fosfato salino (por sus siglas en inglés PBS) para volver a centrifugar, por última vez, los sobrenadantes fueron removidos y se agregó 10 ml de PBS y se homogenizó en el vortex. Cada inóculo fue transferido a un mismo tubo de centrifuga (50 ml) para obtener un coctel con cuatro cepas de *Listeria monocytogenes* (LCDC, Scott A, 101 M y V7). El inóculo (10^8 UFC/ml) fue diluido en serie (1:10) en agua peptona a 0.1%. La mitad de las muestras se inoculó con un nivel de 10^6 UFC/ml y la otra mitad con 10^4 UFC/ml, con el objetivo de obtener como inóculo inicial 10^5 y 10^2 UFC/ml, respectivamente.

Preparación de las muestras.

Para los cortes frescos tanto para melón como para pimiento verde morrón las muestras pesaban 25 g y en el caso de las cortezas se usaron porciones en forma de círculo de 20 cm².

Muestras de corteza. En la superficie de la fruta (melón o pimiento verde) fue trazado un círculo de 20 cm² para luego cortarlo con un cuchillo desinfectado y retirar el exceso de pulpa. Cada muestra fue puesta en un plato Petri estéril antes etiquetado con el nivel de inóculo y el día que corresponde a cada muestra. Las muestras fueron inoculadas con 0.5 ml de inóculo (10^4 o 10^6 UFC/ml) y luego se dejaron secar durante 1 hora en una campana de bioseguridad. Finalmente, las muestras inoculadas fueron incubadas a 24 °C (muestras de melón) y 4 °C (muestras de pimiento verde) por 0, 1, 2, 4, 6, 8 días y 0, 1, 2, 4, 10, 14 días, respectivamente. Para ambas frutas fue procesada una muestra no inoculada como un control negativo.

Muestras de cortes frescos. Se cortaron pedazos (melón o pimiento verde de 1-2 cm³) y luego se pesaron 25 gramos sobre un plato Petri estéril etiquetado correctamente (nivel de inóculo y día para el análisis) sin tapa para hacer una muestra. Después, las muestras fueron inoculadas con 0.5 ml de inóculo (10^4 o 10^6 UFC/ml) y secadas en una campana de bioseguridad durante 1 hora. Posteriormente, las muestras de cortes frescos de melón fueron incubadas a 4 °C por 0, 1, 2, 4, 6 y 8 días y las muestras de pimiento verde fueron incubados por 0, 1, 2, 4 y 6 días. Para ambos frutos fue procesada una muestra no inoculada como control negativo.

Análisis de las muestras.

Cada muestra fue analizada a través del tiempo acorde al día asignado.

Muestras de corteza. La muestra fue pelada para solo obtener la corteza de la fruta, se cortó en pedazos pequeños con una tijera desinfectada para luego colocar dicha muestra dentro de un tubo de centrifuga (50 ml) y pesarla. Se agregaron 20 ml de caldo neutralizante Dey e Engley (D/E) y después se homogenizó en un vórtex. Cuando la muestra estaba homogenizada, fue vertida en bolsas con filtro para facilitar la extracción de 1 ml, de manera que se pudiera realizar la dilución en serie en agua peptona 0.1%. Una vez realizadas las diluciones correspondientes, porciones de 0.1 ml se dispersaron en platos Petri con agar *Listeria* Oxford suplementado con Ácido nalidíxico (50 µg/ml). Los platos Petri fueron incubados a 37 °C durante 24 horas.

Muestra de cortes frescos. Se midió el pH con un potenciómetro, luego cada muestra fue colocada en una bolsa estéril con 100 ml de caldo neutralizante D/E. Todas las bolsas fueron sometidas a un homogeneizador peristáltico (Interscience) para después realizar una dilución en serie (1:10) con agua peptona 0.1%. Finalmente, 0.1 ml de la dilución correspondiente fue esparcida sobre un plato Petri con agar *Listeria* Oxford suplementado con ácido nalidíxico (50 µg/ml) y estos fueron incubados a 37 °C por 24 horas.

Las muestras de frutas inoculadas que resultaron con recuento bajo el límite detectable (<11 UFC/cm²), fueron enriquecidas con 100 ml de caldo neutralizante D/E y se incubaron por 24 horas a 37 °C, para luego esparcir 0.1 ml en un plato Petri con agar e incubar. Esto se realizó como una prueba cualitativa en caso de no obtener crecimiento, mediante el cual se determinó si había presencia de células, pero no estaban dentro del rango detectable.

Recolección de datos.

Los resultados de las cortezas fueron expresados en log UFC/cm² y los cortes frescos en log UFC/g.

Diseño experimental.

Se usó un diseño Completamente al Azar (DCA) con medidas repetidas en el tiempo. Se realizó el análisis por separado por cada tipo de superficie (Cortes frescos de melón, corteza de melón, cortes frescos de pimiento morrón verde y corteza de melón). A cada una se aplicaron dos tratamientos (nivel de inóculo 10⁶ UFC/ml y 10⁴ UFC/ml) con dos repeticiones cada uno. Se realizó un análisis de varianza y una prueba Tukey con una probabilidad P<0.05 para determinar si existe diferencia significativa entre los días de cada tratamiento. Se usó el programa SAS 9.4.

Determinación de tasa máxima de crecimiento y fase lag.

Se usó el programa en línea ComBase por cada uno de los tratamientos.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis del comportamiento de *Listeria monocytogenes* en cortes frescos de pimiento verde morrón.

Para este estudio los cortes frescos fueron almacenados a 4 °C, simulando lo que ocurre cuando un consumidor adquiere sus alimentos después de comprarlos. Como se puede observar en el Cuadro 1, no hay diferencias significativas a lo largo de los días cero, uno, dos, cuatro y seis en cada uno de los tratamientos. Para ambos tratamientos, *Listeria monocytogenes* estadísticamente se mantuvo en el nivel de inóculo inicial, es decir que el patógeno se mantuvo en la fase Lag o de latencia. Esto es debido a que la temperatura de refrigeración inhibe el crecimiento de microorganismos, ya que los procesos biológicos de éste se vuelven lentos.

Cuadro 1. Recuento de *Listeria monocytogenes* (Log UFC/g) en cortes frescos de pimiento verde morrón almacenado a 4 °C.

Tiempo [Día]	Nivel de inóculo bajo § [Media ± DE]	Nivel de inóculo alto § [Media ± DE]
0	3.10 ± 0.06	5.15 ± 0.01
1	2.79 ± 0.55	4.83 ± 0.24
2	2.81 ± 0.04	4.90 ± 0.12
4	2.87 ± 0.38	4.97 ± 0.45
6	3.13 ± 0.39	5.23 ± 0.32
C.V. %	13.25	3.55

C.V.: Coeficiente de variación.

Los valores representan el promedio ± desviación estándar de dos repeticiones.

§ No se encontraron diferencias significativas entre los días (P>0.05).

Además, en un estudio realizado en el que se evaluó el comportamiento de *Listeria monocytogenes* en pimiento verde morrón, se demostró que al exponer el pimiento verde morrón a 10 y 22 °C el nivel de inóculo se redujo en 4.1 y 3.9 UFC/g respectivamente, pero no fue significativo (Cortés 2012). Es decir que ya sea en temperatura de refrigeración o a una temperatura cercana a la del ambiente *Listeria monocytogenes* no puede crecer en los cortes frescos del pimiento verde morrón, este solo es capaz de sustentar su sobrevivencia. En otro estudio realizado por (Huff *et al.* 2012) determinaron que los pimientos con daños en la superficie mantienen el nivel de inóculo original de *Listeria monocytogenes*. Así mismo, indicaron que las superficies con daños en frutas y vegetales hace que los nutrientes

estén disponibles para los microorganismos y que estos presentan mayor riesgo de inocuidad que los productos intactos.

De igual manera que los nutrientes se vuelven más disponibles, al cortar una superficie, ácidos orgánicos son liberados, siendo este un factor que afecte al crecimiento de *Listeria monocytogenes*, como se demuestra en un estudio que dicho patógeno puede crecer en superficies con daños físicos partiendo de 7.80 ± 0.03 log UFC/5 g hasta las cinco semanas con 9.22 ± 0.17 log UFC/5 g (Han *et al.* 2001), aunque hay que considerar que este estudio fue realizado con pimientos verdes morrones almacenados a 10 °C.

Análisis del comportamiento de *Listeria monocytogenes* en la corteza del pimiento verde morrón.

El crecimiento de *Listeria monocytogenes* en los dos escenarios en la corteza del pimiento verde morrón: inóculo alto e inóculo bajo. En base al Cuadro 2, no se observó diferencia significativa entre los días de cada uno de los tratamientos. La corteza de pimiento verde morrón puede sostener el nivel de inóculo inicial, pero no puede crecer, puesto que el pimiento verde morrón presenta una capa que sirve como protección física en contra de agentes físicos y microbiológicos (Milillo 2008; Cortés 2012). Sin embargo, la presencia de daños mecánicos en la superficie del producto son una vía de entrada al interior de las frutas y vegetales.

Cuadro 2. Recuentos de *Listeria monocytogenes* (Log UFC/cm²) en la corteza del pimiento verde morrón almacenado a 4 °C.

Tiempo [Día]	Nivel de inóculo bajo § [Media ± DE]	Nivel de inóculo alto § [Media ± DE]
0	1.85 ± 0.72	3.50 ± 0.21
1	1.49 ± 0.21	3.44 ± 0.13
2	2.28 ± 1.76	1.56 ± 0.09
6	1.85 ± 1.55	2.39 ± 2.31
10	0.90 ± 0.21	2.24 ± 2.10
14	< 0.75*	3.11 ± 1.83
C.V. %	40.19	40.94

C.V.: Coeficiente de variación.

Los valores representan el promedio ± desviación estándar de dos repeticiones.

§ No se encontraron diferencias significativas entre los días (P>0.05).

* Presencia de *Listeria monocytogenes* por debajo del límite de cuantificación (<11 UFC/cm²). Microorganismo detectado después de enriquecer la muestra por 24 h y estriado en agar MOX.

En el tratamiento con nivel de inóculo bajo en el día catorce *Listeria monocytogenes* se presentó bajo el límite detectable. No se reportó conteo, pero se realizó una prueba cualitativa para determinar su ausencia o presencia, en la cual resultó positiva la presencia del patógeno. En un estudio previo, se comprobó que dicho patógeno puede permanecer

viable en la superficie de chiles intacto por periodos en los cuales sus características sensoriales aun resultan atractivas para el consumidor y convertir así este alimento en un potencial vehículo de riesgo para provocar daños a la salud (Cortés 2012). Además, varios estudios en laboratorios demuestran la habilidad de patógenos entéricos de sobrevivir por periodos prolongados (Brandl 2006). *Listeria monocytogenes* sobrevive hasta por dos semanas en la corteza de pimiento verde morrón sin daños físicos (Han *et al.* 2001). Además, es pertinente mencionar que el nivel de inóculo bajo no presenta diferencias significativas durante los días. Sin embargo, se encuentra bajo la dosis infecciosa correspondiente a 10^2 células viables en el caso de los grupos de riesgo, y que esta cifra aumenta hasta 10^4 en el caso de la población sana (López 2006).

Análisis del comportamiento de *Listeria monocytogenes* en cortes frescos de pulpa de melón.

El crecimiento a 4 °C de *Listeria monocytogenes* inoculada en pulpa de melón no fue significativo según datos presentados en el Cuadro 3, por lo que podemos decir que a esta temperatura *L. monocytogenes* se mantiene en población. En otros estudios se ha determinado que la pulpa de melón es capaz de sustentar el crecimiento de *Listeria monocytogenes* a 25 °C (Salazar *et al.* 2017), lo contrario en este estudio, ya que la temperatura es una barrera para el crecimiento de las bacterias, por lo que podemos decir que durante su vida anaquel si la pulpa de melón es contaminada y es almacenada a temperatura de refrigeración, no habrá crecimiento significativo. Esto sucede para ambos niveles de inóculo. Estos resultados son secundados por un estudio realizado, donde los resultados afirman que *Listeria monocytogenes* es capaz de sobrevivir en cortes frescos de melón a 4 °C durante 5 días (Ukuku y Fett 2002).

Cuadro 3. Recuento de *Listeria monocytogenes* (Log UFC/g) en cortes frescos de pulpa de melón a almacenado a 4 °C.

Tiempo [Día]	Nivel de inóculo bajo § [Media ± DE]	Nivel de inóculo alto § [Media ± DE]
0	3.21 ± 0.23	5.23 ± 0.09
1	3.76 ± 0.62	5.14 ± 0.01
2	3.14 ± 0.11	5.25 ± 0.07
4	3.37 ± 0.04	5.48 ± 0.17
6	3.47 ± 0.14	5.62 ± 0.19
8	3.77 ± 0.60	5.63 ± 0.89
C.V. %	11.87	6.17

C.V.: Coeficiente de variación.

Los valores representan el promedio ± desviación estándar de dos repeticiones.

§ No se encontraron diferencias significativas entre los días (P>0.05).

En un estudio se reporta que no hay diferencia significativa entre los días hasta el día 8 ya que después del día 8 *Listeria monocytogenes* se reportó bajo el límite detectable, con un nivel de inóculo inicial de 2.56 UFC/g, el cual fue almacenado a 10 °C por 15 días (Ukuku

et al. 2004). Además, Danyluk et al. (2014) predijeron que: *Listeria monocytogenes* puede crecer 1 log UFC/g en 6 días en pulpa de melón almacenada a 4 °C, este fenómeno no se presenta en este estudio ya que en ninguno de los niveles de inóculo hay diferencia significativa. A pesar de que la pulpa de melón presenta un medio ideal con azúcares, pH alto (6.1 – 6.6) y humedad (90%) para el crecimiento de *Listeria monocytogenes* (Fang et al. 2013, Benmeziane et al. 2016), este solo puede sobrevivir, mas no crecer durante la vida útil de la pulpa de melón. En este estudio se realizaron mediciones de pH donde la pulpa de melón presentó un pH de 6.32, el cual no difiere de la acidez del melón reportada en un estudio previo donde el melón presentó un pH de entre 5.2 y 6.7 (Harris et al. 2003) y además menciona que es un pH ideal para sustentar en crecimiento de *Listeria monocytogenes*.

Análisis del comportamiento de *Listeria monocytogenes* en la corteza de melón.

El comportamiento de patógeno en la corteza del melón no presenta diferencia significativa $P < 0.05$ según el Cuadro 4, lo cual es contradictorio a estudios previos donde se determinó que la tasa de crecimiento aumenta a medida que la temperatura también aumenta, sin embargo, no especifica si durante los días a una temperatura específica existen diferencias significativas (Danyluk et al. 2014). Las cepas de *Listeria monocytogenes* que fueron aisladas de un brote en Estados Unidos en 2011, crecieron en el mesocarpio del melón a 4 °C (Martínez et al. 2016).

Cuadro 4. Recuento de *Listeria monocytogenes* (Log UFC/cm²) en la corteza de melón a 24 °C.

Tiempo [Día]	Nivel de inóculo bajo § [Media ± DE]	Nivel de inóculo alto § [Media ± DE]
0	2.23 ± 0.25	4.45 ± 0.27
1	4.77 ± 0.17	5.17 ± 0.05
2	5.29 ± 0.19	4.51 ± 1.65
4	6.39 ± 0.07	5.81 ± 1.99
6	5.62 ± 3.22	7.15 ± 0.67
8	2.77 ± 1.45	5.13 ± 1.15
C.V. %	32.77	24.37

C.V.: Coeficiente de variación.

Los valores representan el promedio ± desviación estándar de dos repeticiones.

§ No se encontraron diferencias significativas entre los días ($P > 0.05$).

En otro estudio se demostró la capacidad de *Listeria monocytogenes* para internalizarse desde la corteza hasta el mesocarpio del melón (Macarisin et al. 2017) sin embargo, en otro estudio se muestra que este patógeno no puede colonizar el melón si aún tiene la corteza, ya que sirve como barrera protectora y no es capaz de aprovechar todos los nutrientes para crecer, lo cual se evidencia en el tratamiento de nivel de inóculo bajo, pues se presenta que el nivel de inóculo inicial se mantiene, en contraste con lo presentado en el mismo estudio donde dice que *Listeria monocytogenes* decrece en población alrededor de 2-5 log

UCF/melón almacenado a 4, 10 y 25 °C (Nyarko *et al.* 2016). Cabe recalcar que en otro estudio no afirman que *Listeria monocytogenes* puede internalizar dentro de melón pero que, si puede formar biopelículas en la corteza, presentándose difícil para extraer y convirtiéndose en una fuente de contaminación al momento de cortar el melón transfiriendo el patógeno desde la corteza a la parte comestible que es la pulpa (Annous *et al.* 2005, Selma *et al.* 2008; Ukuku y Fett 2002).

Determinación de la tasa máxima mediante ComBase.

Se analizaron los datos de cada nivel de inóculo de pimiento y melón para determinar la tasa máxima de crecimiento y su fase de latencia para compararlos con estudios previos.

En el Cuadro 5, se muestra que *Listeria monocytogenes* presentó tasas máximas de crecimiento negativas, es decir velocidades de muerte. Esto nos indica que en corteza de pimiento verde morrón inóculo bajo y alto, y en cortes frescos de pimiento verde morrón inóculo alto dicho patógeno disminuyó su inóculo inicial, lo cual se compara con las velocidades de muerte a 10 y 22 °C de -0.0047 y -0.0045 Log UFC/h respectivamente, presentados en un estudio previo donde indican también que *Listeria monocytogenes* no se desarrolla en la superficie de pimiento verde morrón, solo puede sobrevivir (Ávila 2010). Por otro lado, en los cortes frescos de pimiento verde morrón inóculo bajo presenta una baja tasa de crecimiento 0.0008 Log UFC/h, esto es debido a que bajos valores de pH son asociados con bajas tasas de crecimiento (Danyluk *et al.* 2014). Los cortes frescos del pimiento verde morrón en este estudio presentaron un pH de 5.48 en promedio.

Cuadro 5. Determinación de la tasa máxima de crecimiento y la fase de latencia o lag de *Listeria monocytogenes* en pimiento verde morrón.

Tratamiento	Modelo	R²	Tasa máxima de crecimiento*	Fase de latencia o Lag^o
Corteza/inóculo alto	Modelo de Baranyi y Roberts	-0.04	-0.0290 ± 0.051	N/A
Corteza/inóculo bajo	Modelo bifásico	0.45	-0.0090 ± 0.004	143.88 ± 67.78
Cortes frescos/inóculo alto	Modelo de Baranyi y Roberts	-0.21	-0.0030 ± 0.010	N/A
Cortes frescos/inóculo bajo	Modelo lineal	-0.10	0.0008 ± 0.002	N/A

*Log UFC/g×h
^o horas

Listeria monocytogenes en todas las superficies evaluadas presentan crecimiento (Cuadro 6). En la corteza no presenta fase de latencia, esto es debido a que la temperatura de almacenamiento para las cortezas sin importar el nivel de inóculo fue 24 °C, es decir que el patógeno crece una vez que es inoculado al exponerlo a la temperatura indicada. Al contrario, sucede con los cortes frescos, que a pesar que es un medio donde los nutrientes están más disponibles para sus procesos fisiológicos, estos tratamientos estuvieron almacenados a 4 °C, lo cual nos indica que *Listeria monocytogenes* a esa temperatura y en cortes frescos de melón debe tener un tiempo de adaptación para poder sobrevivir y crecer. En estudios previos en cortes frescos de melón *Listeria monocytogenes* y microorganismos nativos empiezan a crecer casi inmediatamente, con poca o casi nada de fase lag, cabe recalcar que en este estudio la temperatura fue de 4 °C, a excepción de la cepa con serotipo 1/2a que no desarrolló la curva de comportamiento completa de la bacteria (Fang *et al.* 2013). Lo cual constituye un peligro potencial para los consumidores en caso de haber contaminación de *Listeria monocytogenes* en los melones. Además, Fang (2012) muestra que el nivel de inóculo máximo alcanzado fue 8.0 Log UFC/g a temperaturas en 4 y 43 °C y menciona que el único factor que afecta al crecimiento de *Listeria monocytogenes* es la temperatura de almacenamiento. En otro estudio donde se trata de predecir el comportamiento de *Listeria monocytogenes* con el predictor de ComBase se estimó que el nivel de inóculo inicial incrementa en cortes frescos de melón aproximadamente 4 Log UFC durante 15 días almacenado a 5 °C y 1 Log UFC en seis días a 4 °C (Danyluk *et al.* 2014).

Cuadro 6. Determinación de la tasa máxima de crecimiento y la fase de latencia o lag de *Listeria monocytogenes* en melón.

Tratamiento	Modelo	R ²	Tasa máxima de crecimiento*	Fase de latencia o Lag ^o
Corteza/Inóculo alto	Modelo de Baranyi y Roberts	0.12	0.020 ± 0.020	N/A
Corteza/Inóculo bajo	Modelo de Baranyi y Roberts	0.12	0.110 ± 0.110	N/A
Cortes frescos/Inóculo alto	Modelo bifásico	0.16	0.002 ± 0.003	23.99 ± 99.93
Cortes frescos/Inóculo bajo	Modelo de Baranyi y Roberts	-0.02	0.008 ± 0.012	142.73 ± 77.23

*Log UFC/g×h
^o horas

Con base a los resultados obtenidos *Listeria monocytogenes* en los cuatro ambientes presentados el nivel de inóculo inicial estadísticamente se mantiene constante, es decir que puede sobrevivir y significar un peligro potencial para los consumidores. Lo cual a su vez

es curioso, ya que este patógeno al ser un microorganismo psicrótrofo debió haber mostrado crecimiento significativo en todos los ambientes expuestos ya que como lo explica la FAO (1999): “Aun cuando el *L. monocytogenes* esté presente inicialmente en un alimento contaminado a un nivel bajo, el organismo puede multiplicarse durante el almacenaje, incluyendo almacenaje a temperaturas de frigorífico”. Sin embargo, lo que pudo afectar fueron las diferentes superficies en las que se inoculó, ya que en una los nutrientes están más disponibles que en otras. En general, los patógenos sobrevivirán, pero no crecerán en la superficie libre de daños de las frutas o verduras frescas, debido en parte al carácter protector de las barreras naturales de la planta como lo son las paredes de celosías y capas de cera (Harris *et al.* 2003), lo que sustenta la diferencia no significativa en el crecimiento de las cortezas de las frutas en ambos casos: pimiento verde morrón y melón. Otro motivo por el cual no se presentaron diferencias significativas entre los días en cada uno de los tratamientos, fue porque a menudo las muestras son muy pequeñas para ser de relevancia estadística, especialmente si la probabilidad de detección es baja. Así mismo, se menciona que el motivo puede ser que no existió una optimización en las técnicas de aislamiento del patógeno, entre otras consideraciones como los procedimientos de toma de muestra, temperatura y humedad de almacenamiento no controlada, número y tamaño de la muestra, área o porción para tomar la muestra (fruta entera, solo piel o cortado en cubitos), temperatura de la solución diluyente, composición del medio de cultivo, tiempo de procesamiento, entre otros (Harris *et al.* 2003).

4. CONCLUSIONES

- *Listeria monocytogenes* puede sobrevivir en cortes frescos y corteza de pimientos verde morrones en periodos prolongados (seis y 14 días, respectivamente) cuando se almacena a temperatura de refrigeración (4 °C).
- *Listeria monocytogenes* puede sobrevivir en cortes frescos de melones y corteza de melones durante ocho días, ya que los melones brindan un medio ideal para su sobrevivencia ya sea almacenado a 4 °C en cortes frescos o 24 °C en corteza de melón.

5. RECOMENDACIONES

- Futuras investigaciones deben centrar la atención en la prevención de la contaminación en las cortezas de las frutas y vegetales, debido a que son un vehículo de *Listeria monocytogenes*.
- Comparar el comportamiento de *Listeria monocytogenes* en melones y pimientos a diferentes temperaturas de almacenamiento.
- Evaluar el crecimiento de *Listeria monocytogenes* en melones y pimientos desde la cosecha hasta el punto de venta de melones y pimientos verdes morrones.

6. LITERATURA CITADA

- Ávila DE. 2010. Identificación del hongo causante del deterioro poscosecha en pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.) y su influencia en el comportamiento de microorganismos patógenos en la superficie del fruto. [Tesis]. Universidad Autónoma de Querétaro. Facultad de Química. Santiago de Querétaro, Querétaro, México. p. 72.
- Berrang ME, Brackett RE, Beuchat LR. 1989. Growth of *Listeria monocytogenes* on Fresh Vegetables Stored Under Controlled Atmosphere. *Journal of Food Protection*. 52 (10): 702-705. DOI: 10.4315/0362-028X-52.10.702.
- Benmeziane F, Djerpune – Arkoub L, Boudraa AT, Bellaagoune S. 2016. Physicochemical characteristics and phytochemical content of jam made from melon (*Cucumis melo*). *International Food Research Journal*. ISSN: 2231-7546. 25(1): 133-141.
- Brandl MT. 2006. Fitness of human enteric pathogens on plants and implications for food safety. *Annu Rev Phytopathol*. 44:367–392. ing. DOI:10.1146/annurev.phyto.44.070505.143359.
- Cortés J. 2012. Comportamiento de *Listeria monocytogenes* y *Salmonella spp.* en chile jalapeño, chile pimiento morrón y salsa mexicana. [Tesis]. Universidad Autónoma de Querétaro. Facultad de Química. Santiago de Querétaro, Querétaro, México. p. 32.
- Danyluk MD, Friedrich LM, Schaffner DW. 2014. Modeling the growth of *Listeria monocytogenes* on cut cantaloupe, honeydew and watermelon. *Food Microbiology*. 38:52–55. ing. DOI:10.1016/j.fm.2013.08.001.
- Doyle MP. 1990. Fruit and Vegetable Safety-Microbiological Considerations. [Internet]. Wisconsin: Madison. [Consultado 2018 Ene 13]. Disponible en línea en <http://hortsci.ashspublications.org/content/25/12/1478.full.pdf>
- Fang T, Liu Y, Huang L. 2013. Growth kinetics of *Listeria monocytogenes* and spoilage microorganisms in fresh-cut cantaloupe. *Food Microbiology*. 34(1):174–181. eng. doi:10.1016/j.fm.2012.12.005.
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). 1999. Comisión del codex alimentarius. Documento de debate sobre el control de *Listeria monocytogenes* en los alimentos. [Internet]. [Consultado 2018 jun 22]. Disponible en línea en http://www.fao.org/tempref/codex/Meetings/CCFH/CCFH32/FH99_10s.pdf

FDA (Food and Drugs Administration). 2013. Mantenga la *Listeria* fuera de su cocina. [Internet]. [Consultado 2018 may 9]. Disponible en línea en <https://www.fda.gov/ForConsumers/ConsumerUpdates/ucm389364.htm>

Gordon R. 2016. USDA Report: Melon Consumption Increased In 2015. [Internet]. [Consultado 2018 may 10]. Disponible en línea en <http://www.growingproduce.com/vegetables/usda-report-melon-consumption-increased-in-2015/>

Han Y, Linton RH, Nielsen SS, Nelson PE. 2001. Reduction of *Listeria monocytogenes* on green peppers (*Capsicum annuum L.*) by gaseous and aqueous chlorine dioxide and water washing and its growth at 7 degrees C. *Journal of Food Protection*. 64(11):1730–1738. eng.

Harris LJ, Farber JN, Beauchat LR, Parish ME, Suslow TV, Garrett EH, Busta FF. 2003. Outbreaks associated with fresh produce: incidence, growth, and survival of pathogens in fresh and fresh-cut produce. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2: 78-141.

Hoffmann S, Macculloch B, Batz M. 2015. Economic Burden of Major Foodborne Illnesses Acquired in the United States. USDA. [Internet]. Estados Unidos. [Consultado 2018 abr 14]. Disponible en línea en https://www.ers.usda.gov/webdocs/publications/43984/52807_eib140.pdf

Huff K, Boyer R, Denbow C, O’Keffe, Williams R. 2012. Effect of storage temperature on survival and growth of foodborne pathogens on whole, damaged, and internally inoculated jalapeños (*Capsicum annuum var. annuum*). *Journal of Food Protection*. 75 (2): 382-388. DOI: 10.4315/0362-028X.JFP-11-304.

López V, Suárez M, Chico-Calero I, Navas J, Martínez-Suárez JV. 2006. *Listeria monocytogenes* en alimentos: ¿son todos los aislamientos igual de virulentos?. *Revista Argentina de Microbiología*. 38 (4): 224-234

Macarisin D, Wooten A, Jesus A de, Hur M, Bae S, Patel J, Evans P, Brown E, Hammack T, Chen Y. 2017. Internalization of *Listeria monocytogenes* in cantaloupes during dump tank washing and hydrocooling. *International Journal of Food Microbiology*. 257:165–175. eng. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2017.06.018.

Martínez MR, Osborne J, Jayeola VO, Katic, Kathariou S. 2016. Capacity of *Listeria monocytogenes* Strains from the 2011 Cantaloupe Outbreak To Adhere, Survive, and Grow on Cantaloupe. *Journal of Food Protection*. 79 (5): 757-63. eng. DOI: 10.4315/0362-028X.JFP-15-498.

Milillo SR, Badamo JM, Boor KJ, Wiedmann M. 2008. Growth and persistence of *Listeria monocytogenes* isolates on the plant model *Arabidopsis thaliana*. *Food Microbiol.* 25(5):698–704. eng. DOI:10.1016/j.fm.2008.03.003.

Nyarko E, Kniel KE, Millner PD, Luo Y, Handy ET, Reynnells R, East C, Sharma M. 2016. Survival and growth of *Listeria monocytogenes* on whole cantaloupes is dependent on site

of contamination and storage temperature. *International Journal of Food Microbiology*. 234:65–70. eng. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2016.06.030.

Orihuel E, Bertó R, Canet JJ, Lorenzo F, Milvaques A. 2013. *Listeria monocytogenes* en industrias cárnicas.

Paramithiotis S, Drosinos EH, Skandamis PN. 2017. Food recalls and warnings due to the presence of foodborne pathogens - a focus on fresh fruits, vegetables, dairy and eggs. *Current opinion in Food Science*. 18: 71-75. DOI: 10.1016/j.cofs.2017.11.007.

Penteado AL, Leito MF. 2003. Growth of *Listeria monocytogenes* in melon, watermelon and papaya pulps. *International Journal of Food Microbiology*. 92 (1): 89-94. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2003.08.020>

Pérez-Conesa D, McLandsborough L, Weiss J. 2006. Inhibition and Inactivation of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157:H7 Colony Biofilms by Micellar-Encapsulated Eugenol and Carvacrol. [Tesis]. Universidad de Massachussetts, Massachussetts, Estados Unidos. Pág. 2947-2954.

RTCA (Reglamento Técnico Centroamericano). 2009. Criterios microbiológicos para la inocuidad de alimentos. [Internet]. [Consultado 2018 May 11]. Disponible en línea en <http://tramites.gob.hn/sites/default/files/Reglamento%20Tecnico%20Centroamerican.pdf>

Salazar JK, Sahu SN, Hildebrandt IM, Zhang L, Qi Y, Liggans G, Datta AR, Tortorello ML. 2017. Growth Kinetics of *Listeria monocytogenes* in Cut Produce. *Journal of Food Protection*. 80 (8): 1328-1336. DOI: 10.4315/0362-028X.JFP-16-516

USDA (United States Department of Agriculture). 2013. Commodity Highlight: Bell Peppers. [Internet]. [Consultado 2018 may 10]. Disponible en línea en https://www.ers.usda.gov/webdocs/publications/39535/41021_vgs353sa1.pdf?v=42125

USDA (United State Department of Agriculture). 2014. Cost of foodborne illness estimates for *Listeria monocytogenes*. [Internet]. United States. [Consultado 2018 abr 14]. Disponible en línea en <https://www.ers.usda.gov/data-products/cost-estimates-of-foodborne-illnesses/>

Ukuku DO, Fett WF. 2002. Behavior of *Listeria monocytogenes* Inoculated on Cantaloupe Surfaces and Efficacy of Washing Treatments to Reduce Transfer from Rind to Fresh-Cut Pieces. *Journal of Food Protection*. 65 (6): 924-930.

Ukuku DO, Fett WF, Sapers GM. 2004. Inhibition of *Listeria monocytogenes* by native microflora of whole cantaloupe. *Journal of Food Safety*. 24(2):129–146. DOI:10.1111/j.1745-4565.2004.tb00380.x.

WHO (World Health Organization). 2018. Listeriosis - Australia. [Internet]. [Consultado 2018 jun 22]. Disponible en línea en <http://www.who.int/csr/don/09-april-2018-listeriosis-australia/en/>

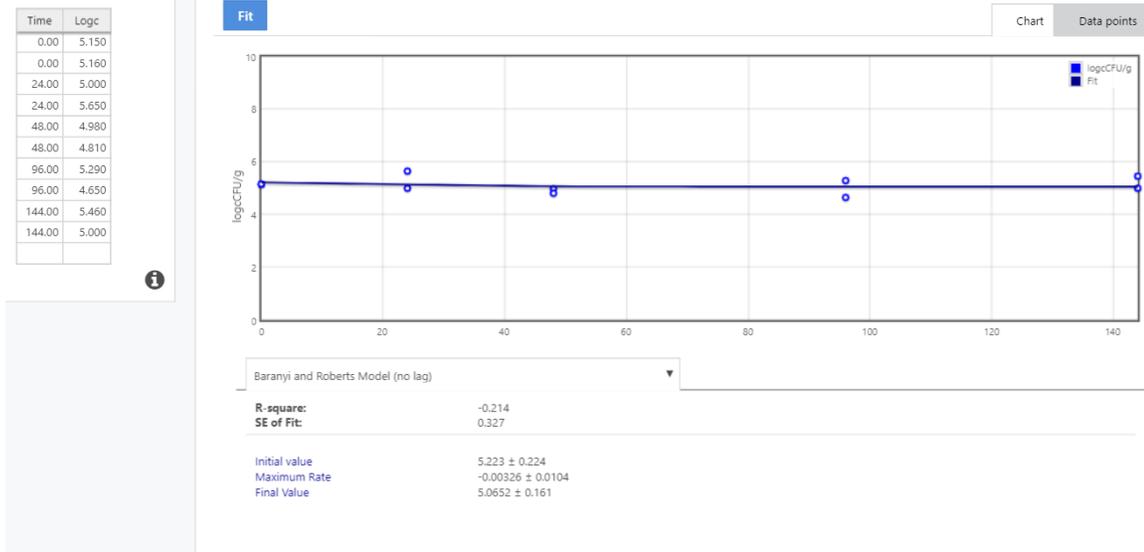
Zhang L. 2015. Survival and growth of *Listeria monocytogenes* in chopped green and red bell peppers using predictive modeling. [Tesis]. Instituto Tecnológico de Illinois, Chicago, Estados Unidos

7. ANEXOS

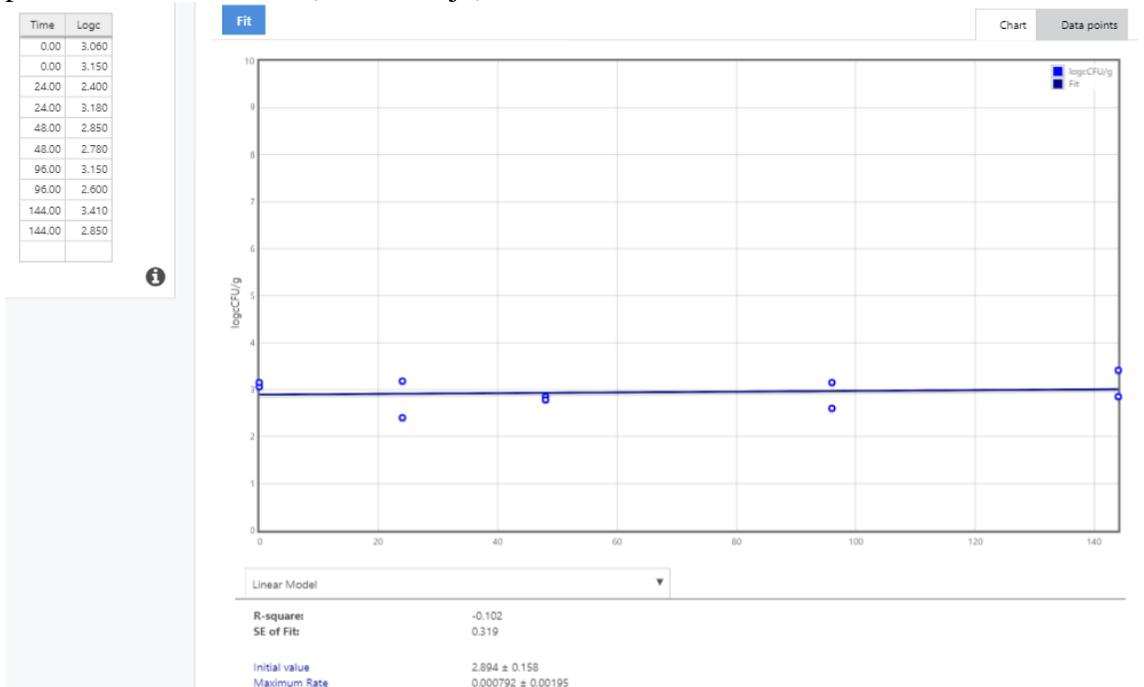
Anexo 1. Cuadros de salida de análisis estadístico SAS 9.4.

Parámetros	Análisis	F value	Probabilidad
Recuento de <i>Listeria monocytogenes</i> (Log UFC/g) en cortes frescos de pimiento verde morrón almacenado a 4 °C – Inóculo alto.	DIAS	1.86	0.2810
	BLK	8.16	0.0461
Recuento de <i>Listeria monocytogenes</i> (Log UFC/g) en cortes frescos de pimiento verde morrón almacenado a 4 °C – Inóculo bajo.	DIAS	0.35	0.8352
	BLK	0.06	0.8140
Recuentos de <i>Listeria monocytogenes</i> (Log UFC/cm ²) en la corteza del pimiento verde morrón almacenado a 4 °C – Inóculo alto.	DIAS	0.94	0.5267
	BLK	5.75	0.0618
Recuentos de <i>Listeria monocytogenes</i> (Log UFC/cm ²) en la corteza del pimiento verde morrón almacenado a 4 °C – Inóculo bajo.	DIAS	1.27	0.3990
	BLK	5.95	0.0587
Recuento de <i>Listeria monocytogenes</i> (Log UFC/g) en cortes frescos de pulpa de melón a almacenado a 4 °C – Inóculo alto.	DIAS	0.82	0.5844
	BLK	3.01	0.1432
Recuento de <i>Listeria monocytogenes</i> (Log UFC/g) en cortes frescos de pulpa de melón a almacenado a 4 °C – Inóculo bajo.	DIAS	0.85	0.5670
	BLK	0.00	0.9733
Recuento de <i>Listeria monocytogenes</i> (Log UFC/cm ²) en la corteza de melón a 24 °C – Inóculo alto.	DIAS	1.18	0.4306
	BLK	0.00	0.9816
Recuento de <i>Listeria monocytogenes</i> (Log UFC/cm ²) en la corteza de melón a 24 °C – Inóculo bajo.	DIAS	2.50	0.1685
	BLK	2.61	0.1669

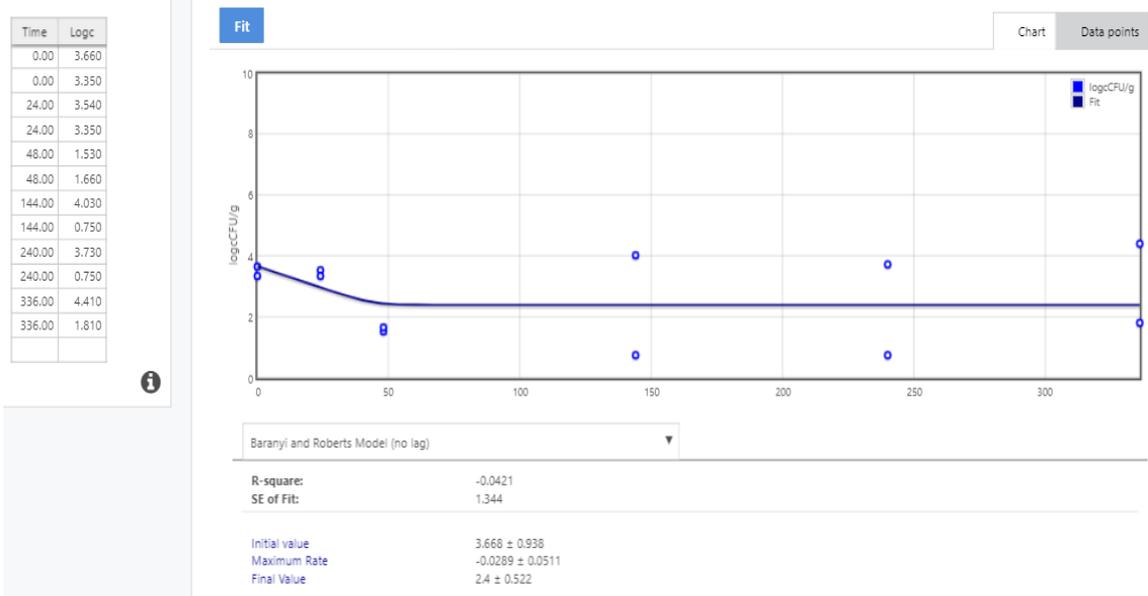
Anexo 2. Gráfica de comportamiento de *Listeria monocytogenes* en cortes frescos de pimienta verde morrón (inóculo alto) almacenado a 4 °C.



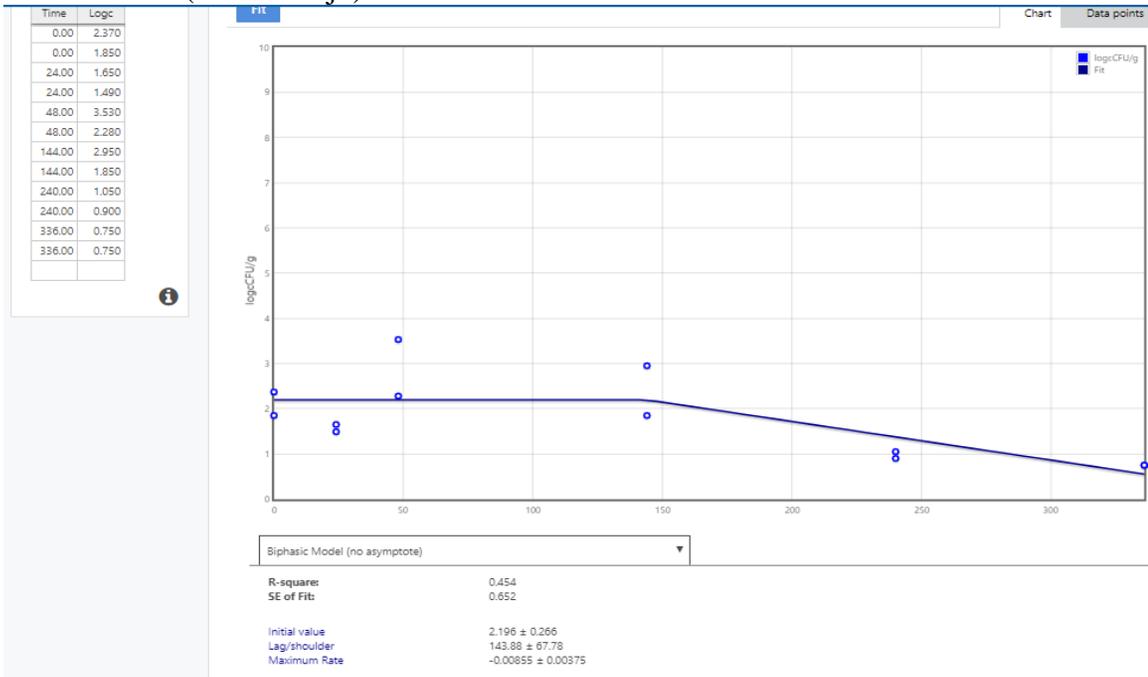
Anexo 3. Gráfica de comportamiento de *Listeria monocytogenes* en cortes frescos de pimienta verde morrón (inóculo bajo) almacenado a 4 °C.



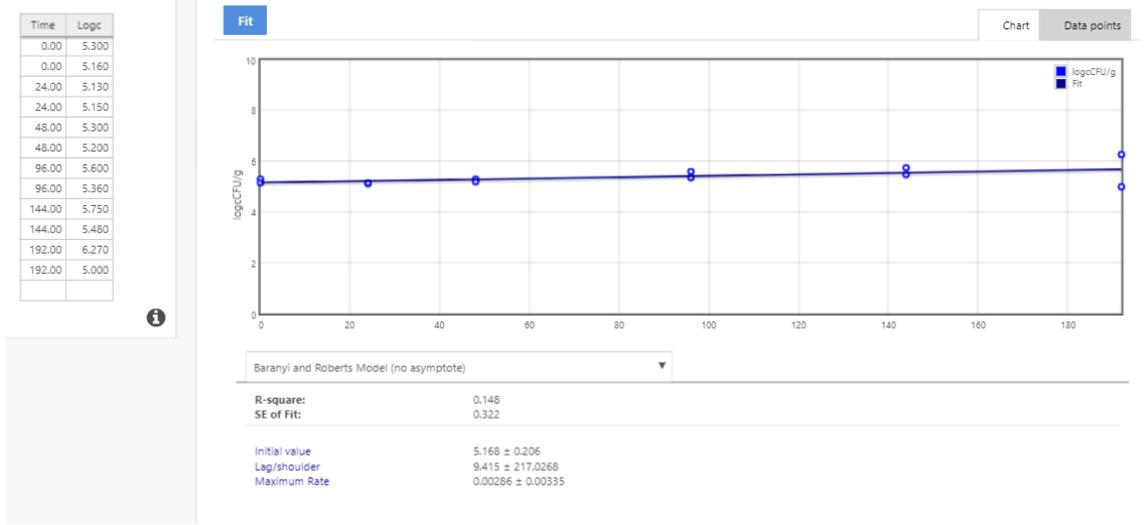
Anexo 4. Gráfica de comportamiento de *Listeria monocytogenes* en corteza de pimienta verde morrón (inóculo alto) almacenado a 4 °C.



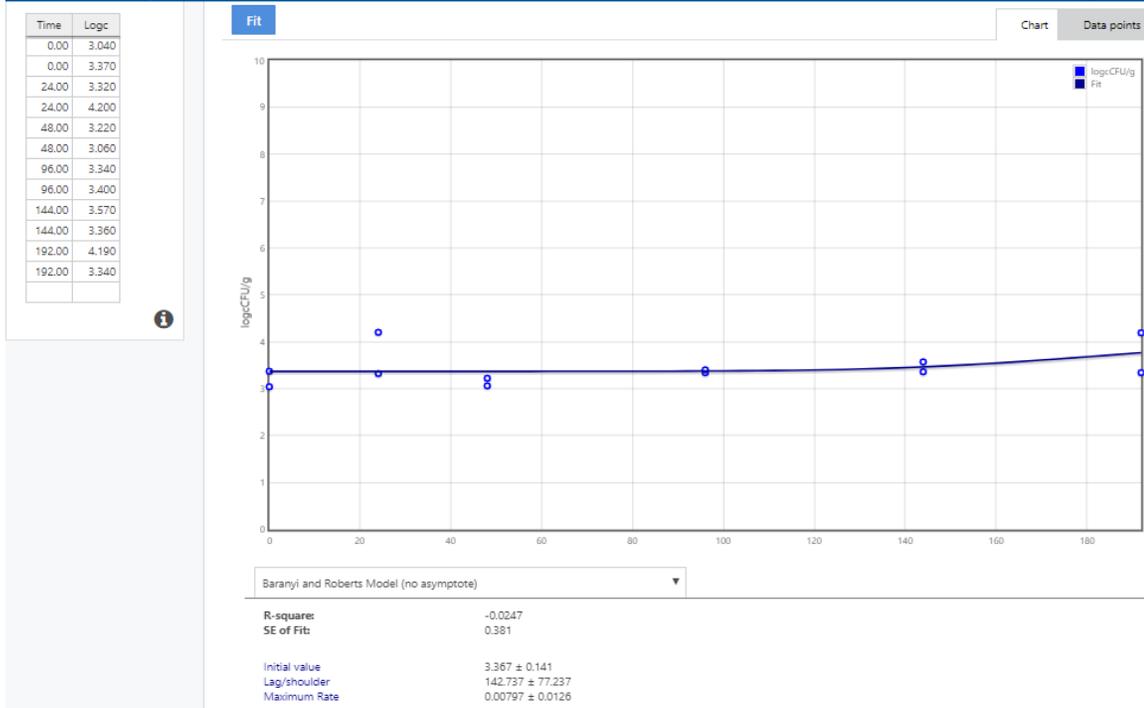
Anexo 5. Gráfica de comportamiento de *Listeria monocytogenes* en corteza de pimienta verde morrón (inóculo bajo) almacenado a 4 °C.



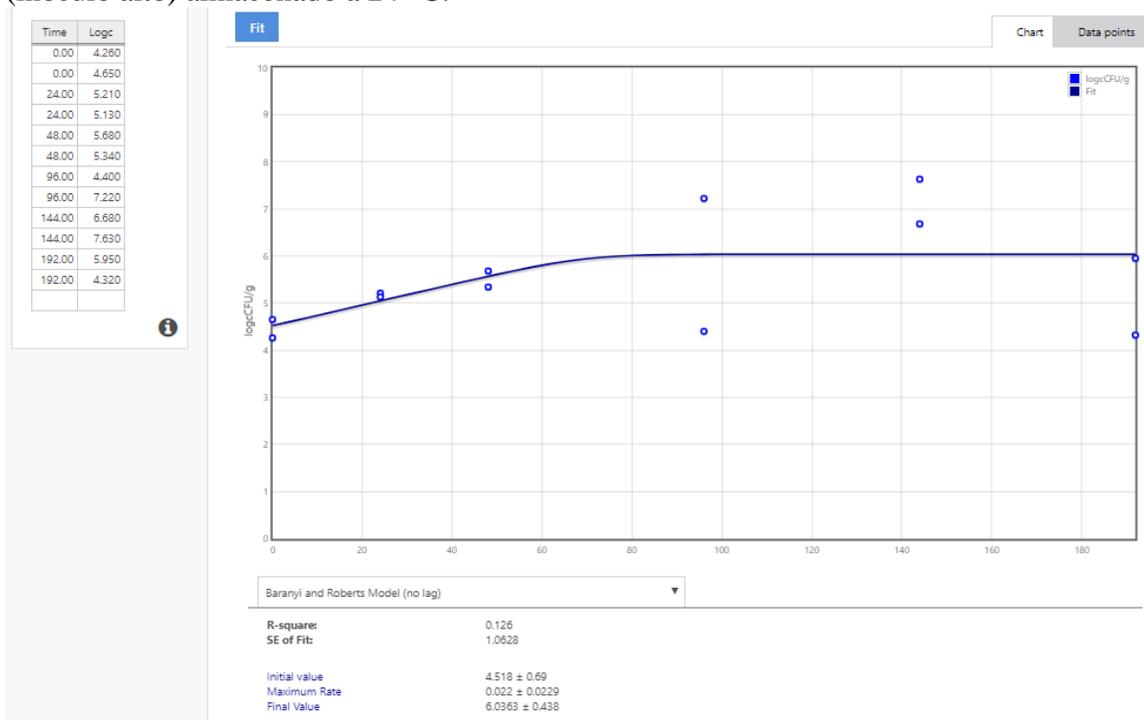
Anexo 6. Gráfica de comportamiento de *Listeria monocytogenes* en cortes frescos de melón (inóculo alto) almacenado a 4 °C.



Anexo 7. Gráfica de comportamiento de *Listeria monocytogenes* en cortes frescos de melón (inóculo bajo) almacenado a 4 °C.



Anexo 8. Gráfica de comportamiento de *Listeria monocytogenes* en corteza de melón (inóculo alto) almacenado a 24 °C.



Anexo 9. Gráfica de comportamiento de *Listeria monocytogenes* en corteza de melón (inóculo bajo) almacenado a 24 °C.

