

Riesgo alimentario de *Listeria monocytogenes*, en ensalada de frutas y yogurt natural, en la transmisión de listeriosis humana

Dietary risk of *Listeria monocytogenes*, in fruit salad and natural yogurt, in the transmission of human listeriosis

Rosa Mery Segura Vega¹, Milciades Chávez Castillo²

Resumen

Se determinó la frecuencia de *Listeria monocytogenes* y los factores de riesgo de contaminación asociados en ensalada de frutas y yogurt natural, que se comercializaron en la ciudad de Trujillo (Perú) 2012 – 2013. Se evaluó 102 muestras de ensalada de frutas y de yogurt natural, de centros de expendio de estos productos. Se realizó una encuesta, según ficha de vigilancia sanitaria del Ministerio de Salud, en cada centro de expendio de dichos productos. Las muestras se sembró en medios de cultivo para el aislamiento e identificación de *L. monocytogenes* y se encontró 7,84% en la ensalada de frutas y 4,90% en yogurt natural. El 42,16% de los centros de expendio los venden en mal estado de conservación; el 63,73% de los manipuladores no aplican buenas prácticas de manipulación, el 59,80% no cumplen las reglas higiénicas personales y el 56,86% de los centros de expendio presentan condiciones higiénicas sanitarias no aceptables. *L. monocytogenes* estuvo presente en ensalada de frutas y yogurt natural comercializados en la ciudad de Trujillo y existen factores de riesgo de contaminación que actúen como vehículo de transmisión de la listeriosis en la población consumidora de estos productos.

Palabras clave: Frecuencia, *Listeria monocytogenes*, ensalada de frutas, yogurt natural, factores de riesgo.

Abstract

Frequency of *Listeria monocytogenes* and pollution risk factors associated in fruit salad and yogurt, which were sold in the city of Trujillo (Peru) 2012-2013, were determined. The number of samples of salad of fruits and yogurt, from centers of sale of these products, was 102. A survey, according to the Ministry of Health surveillance card was administrated in each center of sale of these products. Samples was sown in culture media for the isolation and identification of *L. monocytogenes* and found 7.84% in the fruit salad and yogurt 4.90%. 42,16% dispensing centers sell them in a bad state of conservation; 63,73% of handlers did not apply good practices of handling, 59,80% personal did not comply with the rules of hygiene and 56,86% of retail centers did not have acceptable sanitary hygienic conditions. *L. monocytogenes* was present in fruit salad and yogurt sold in the city of Trujillo, and there are risk factors of pollution that act as a vehicle of transmission of listeriosis in the user population of these products.

Keywords: Frequency, *Listeria monocytogenes*, fruit salad, natural yogurt, risk factors.

1. Biólogo – Microbiólogo. Magister (c) c/m en Microbiología Clínica

2. Microbiólogo. Doctor en Microbiología. Docente Emérito Universidad Nacional de Trujillo

I. INTRODUCCION

La alimentación adecuada es fundamental para la salud y la vida; a través de ella, los alimentos aportan energía y nutrientes esenciales: proteínas, ácidos grasos, minerales, vitaminas y agua. La pérdida de salud y de vida de muchos seres humanos se debe a la ingestión de alimentos contaminados, alterados o tóxicos (Ramírez, 2006). La contaminación de los alimentos, muchas veces, produce enfermedades transmitidas por alimentos (ETA), que se definen como el síndrome originado por la ingestión de productos alimenticios, agua o ambos, que contienen agentes etiológicos en cantidades que afecten la salud del consumidor a escala individual o de grupos. Las ETA se producen en cualquiera de las etapas de la cadena alimentaria: producción, transporte, almacenamiento, elaboración, distribución o consumo de alimentos (Mossel y Moreno, 2003; FAD, 2012). Recientemente, y en todo el mundo, se ha reportado el incremento de la frecuencia de estas enfermedades, sin embargo, no todos los casos son reportados a las autoridades de salud, estimándose que sólo el 1 – 10% es declarado y figuran en las estadísticas de los casos reales (Corpas y Salazar, 2007).

Los agentes responsables de las ETA son bacterias y sus toxinas, virus, parásitos, sustancias químicas, metales y sustancias tóxicas de origen vegetal que pueden provenir de herbicidas, plaguicidas o fertilizantes (Acuña y otros, 2005). Más frecuentes son las bacterias que, como todo ser vivo, se alimentan, reproducen y necesitan que el alimento, que les sirve de vehículo y de hábitat, les brinde condiciones favorables, tales como: disponibilidad de nutrientes, temperatura adecuada, entorno no agresivo (condiciones adecuadas de acidez, salinidad y humedad) (Vásquez, 2003), por lo que, si se les concede el tiempo necesario, se reproducen a velocidad inusitada, alcanzando dosis infectantes; produciendo toxinas, aquellos que son toxigénicos; convirtiendo un alimento inocuo en peligroso; algunos pueden formar esporas, que germinan cuando encuentran condiciones óptimas, dando lugar a formas infectantes (Uriarte, 2008).

En los últimos años, se ha producido la aparición de otros agentes de ETA, como *Escherichia coli* O157:H7 y *Listeria monocytogenes*, de los que se desconocía su papel en la transmisión a través de los alimentos (Ramírez, 2006). *L. monocytogenes* está emergiendo como una importante bacteria patógena; cuya explicación comprende cambios importantes en la producción (riego con aguas contaminadas), procesamiento y distribución de los alimentos (Madigan y otros, 2004), la utilización cada vez mayor de la refrigeración como medio de conservación primaria de los alimentos, cambios en los hábitos de alimentación de la población, particularmente relacionada a la comodidad de los alimentos ya preparados, y un incremento del número

de personas con alto riesgo de sufrir enfermedades (ancianos, gestantes, recién nacidos, inmunodeprimidos) (Mosse y Moreno, 2003).

L. monocytogenes es una bacteria que se desarrolla intracelularmente, bacilo Gram positivo, pequeño (0,4 - 0,5 micrones de ancho x 0,5 - 1,2 de largo) no ramificado, anaerobio facultativo, halotolerante, asporógeno, acapsulado, capaz de proliferar a 1 - 45 °C, flagelos peritricos, gracias a los cuales presenta movilidad a 30 °C o menos, pero es inmóvil a 37 °C, temperatura a la cual, sus flagelos se inactivan (Jawetz y otros, 2008). Debido a que su principal hábitat es el suelo y la materia vegetal en descomposición, en la cual sobrevive y crece como saprófito, tiene muchas oportunidades de contaminar alimentos crudos, procesados y/o elaborados con leche no pasteurizada, e incluso puede sobrevivir varias semanas en varios alimentos congelados (Berrocal y otros, 2010). A partir de los años 80, es considerada como patógeno humano, que se transmite a través de los alimentos causando la listeriosis (Larraín y otros, 2008), un problema de salud pública a nivel mundial, con una tasa de mortalidad de 20 – 30% (Medrano y otros, 2006), siendo la mortalidad más alta que las demás ETA. Por ello, hay interés en excluir a este microorganismo de las etapas de la cadena alimentaria y mantener las condiciones que inhiban su multiplicación en los alimentos (Gamedia y otros, 2008).

Reportes epidemiológicos afirman que Estados Unidos, anualmente, presenta 2 500 casos de listeriosis (Murray y otros, 2009); en Europa 0,1 y 11,3 casos por millón de habitantes (Winn y otros, 2008); en Chile, entre enero y mayo del 2009, se reportaron 27 casos de listeriosis, con una mortalidad del 26% (Ministerio de Salud de Chile, 2009). En el Perú, sólo en la Región de La Libertad, se han reportado 42 casos de listeriosis, durante 2001 - 2008; el mayor número en las provincias de Trujillo y Chepén (Ministerio de Salud del Perú, 2009). Los datos de los orígenes de los brotes de listeriosis indican que algunos alimentos son más peligrosos que otros, considerándose de alto riesgo a los alimentos listos para consumir y/o conservados por un período de tiempo prolongado a temperatura de refrigeración, que se complementan con la no observancia de las buenas prácticas de higiene (BPH) y las buenas prácticas de manipulación (BPM) (Frazier y Wethoff, 2003).

L. monocytogenes es capaz de desarrollarse en frutas, vegetales, leche y sus derivados (Gombas y otros, 2003; Carrascal y otros, 2007). En el Perú, casi no existen reportes sobre la presencia de *L. monocytogenes* en ensalada de frutas y yogurt natural, sin embargo, hay estudios realizados en frutas tipo Buffet, en siete hoteles de San José – Costa Rica, donde se aisló esta bacteria 7% (Arias y Antillón, 2008); y en Estados Unidos, tuvo una prevalencia de 4% en jugo de manzana y en una mezcla

de jugo de manzana y frambuesa no pasteurizados (Harris y otros, 2003).

Investigaciones en el municipio de Pamplona (Colombia) reportan a *L. monocytogenes* en la leche sin pasteurizar 3% (Carrascal y otros, 2007); 22% en plantas lecheras en Chile (Schöbitz, 2009); 39% en leche sin pasteurizar y 4,35% la pasteurizada la ciudad de Manizales (Colombia) (Corpas y Salazar, 2007). Es decir este microorganismo es capaz de resistir a los procesos de elaboración, maduración, almacenamiento, incluso al de pasteurización de los productos lácteos.

La presente investigación tuvo como objetivo, determinar la presencia de *Listeria monocytogenes* en ensalada de frutas y yogurt natural que se comercializan en la ciudad de Trujillo, durante los años 2012 y 2013; así como evaluar los factores de riesgo asociados a la transmisión de listeriosis.

II. MATERIAL Y MÉTODO

1. MATERIAL

1.1 Muestra

Constituido por 102 muestras de ensalada de frutas y 102 muestras de yogurt natural de los centros de expendio de la ciudad de Trujillo – Perú, desde setiembre 2012 a abril 2013.

1.2 Instrumento de recolección de datos

Ficha de vigilancia sanitaria del Ministerio de Salud del Perú (Resolución Ministerial N° 282-2003-SA/DM, 2003).

2. MÉTODOS Y TÉCNICAS

2.1. Toma de muestra para cultivo

En forma aséptica, se realizó la toma de muestras (Norma Técnica Peruana NTP-ISO 2859-1, 2009) de ensalada de frutas y yogurt natural, en los diferentes centros de expendio de la ciudad Trujillo (Perú), desde setiembre 2012 a abril del 2013. Las muestras se colocaron en tapers descartables y se rotularon adecuadamente y de inmediato se trasladaron al Laboratorio de Bacteriología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Trujillo. Al mismo tiempo, se efectuó una encuesta, según ficha de vigilancia sanitaria del Ministerio de Salud (Resolución Ministerial N° 282-2003-SA/DM, 2003) a cada uno de los comercializadores de estos productos.

2.2. Aislamiento de *Listeria monocytogenes*

Las unidades muestrales de ensalada de frutas y yogurt natural se procesaron, según la técnica descrita en el Manual de Bacteriología Analítica de

la Food and Drug Administration (Hitchins y Jinneman, 2009).

Pre enriquecimiento

Se pesó 25 g de cada muestra de ensalada de frutas, luego, se homogenizó con 225 mL de caldo de enriquecimiento Base Listeria (LEB), en un agitador Stomacher, durante un minuto y se incubó a 30 °C durante 4 h. Este mismo procedimiento se repitió con las muestras de yogurt natural.

Enriquecimiento

Luego de la incubación, se agregó 0,9 mL de suplemento selectivo para caldo LEB a cada muestra, prolongándose la incubación hasta completar 24 - 48 h, a 30 °C.

Aislamiento

A partir del caldo LEB enriquecido e incubado por 24 - 48 h, se sembró en agar Oxford y agar Palcam, por estría y agotamiento, luego, se incubó a 35 °C por 24 - 48 h. En agar Oxford, las colonias pequeñas, redondas, gris azulado rodeadas de un halo negro y con una depresión central, se consideraron compatibles con el género *Listeria*. En el agar Palcam, las colonias pequeñas, redondas, verdes grisáceas rodeadas de un halo marrón-negro, se consideraron compatibles con el género *Listeria*. Las colonias en los medios Oxford y Palcam, compatibles con el género *Listeria* se las repicaron en agar tripticasa soya – extracto de levadura 0,6% (TSAYE) y en caldo tripticasa soya – extracto de levadura 0,6% (TSBYE) y se incubaron a 35° C por 24 h, para, posteriormente, realizar la respectiva identificación.

2.3. Identificación de *Listeria monocytogenes*

Se realizó, mediante coloración Gram y pruebas bioquímicas: catalasa, hidrólisis de la esculina, Rojo de metilo/Voges Proskauer, oxidasa, ureasa, reducción de nitratos, movilidad a 25 °C, hemolisinas, CAMP (Christie-Atring-Munch-Peterson), fermentación de xilosa y fermentación de ramnosa (Winn y otros, 2008).

2.4. Análisis de datos

Los datos obtenidos fueron analizados con estadística descriptiva, presentándose los resultados en tabla de distribución de frecuencias y gráficos de columnas en 2-D.

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Cuadro 1. Distribución numérica y porcentual de *Listeria monocytogenes* en muestras de ensalada de frutas y yogurt natural, comercializadas en la ciudad de Trujillo – Perú. 2012 y 2013.

Muestras	Frecuencia de <i>Listeria monocytogenes</i>					
	casos positivos		casos negativos		Total de muestras analizadas	
	Nº	(%)	Nº	(%)	Nº	(%)
Ensalada de frutas	8	7,84	94	92,16	102	100,00
Yogurt natural	5	4,90	97	95,10	102	100,00

De 102 muestras de ensalada de frutas evaluadas durante los años 2012 y 2013, se aisló *L. monocytogenes* en un 7,84% (Cuadro 1); resultados que se asemejan a los encontrados por Arias y Antillón (2008), en frutas tipo buffet de siete hoteles de San José - Costa Rica, donde reportan que el 7% de estas frutas presentaron *L. monocytogenes*; en tanto en un estudio realizado por Harris y otros (2003), en Estados Unidos, en muestras de jugos de manzana y una mezcla de jugo de manzana y frambuesa no pasteurizados reportaron que la prevalencia de *L. Monocytogenes* fue del 4%, sin embargo Gombasd y otros (2003) durante los años 2000 - 2001 en los Estados Unidos, en un estudio realizado en ensalada deli o de fruta reportaron que el 2,36 % presentaba el patógeno, lo que la presencia de *L. monocytogenes* en estos alimentos es un riesgo alimentario latente de listeriosis humana. En la actualidad, se estima que la tasa de mortalidad es de 20 a 30% a nivel mundial en la población de más alto riesgo (Garmedía y otros, 2008). El bajo resultado encontrado por Gombasd, en comparación con el presente y el realizado en Costa Rica, indica que en los Estados Unidos, las condiciones higiénicas sanitarias involucradas desde la producción hasta el consumo del producto final es más estricta y están comprometidas con la salud de las personas.

De las 102 muestras de yogurt natural, se aisló *L. monocytogenes* en un 4,90% (Cuadro 1). Teniendo en cuenta, que la leche es la materia prima para la preparación del yogurt natural y es inocua al extraerla no contiene microorganismos patógenos en su composición, pero después de una hora aproximadamente es un excelente caldo de cultivo, lo que permite el desarrollo de patógenos. La cantidad encontrada de *L. monocytogenes* es similar a un estudio realizado a una empresa de lácteos de la ciudad de Manizales (Colombia), en donde Corpas y Salazar (2007) reportan que el 4,35% de las muestras de leche pasteurizada presentan *L. Monocytogenes* y en la sin pasteurizar reportaron 39%. Asimismo, su incidencia de esta bacteria en muestras de leche sin pasteurizar expandidas por el municipio de Pamplona (Colombia) reportan el 3% (Carrascal y otros, 2007). Schöbitz y otros (2009), en un estudio realizado en Chile en plantas lecheras, reportó la presencia de *L. monocytogenes* en un 22%. Estos resultados demuestran que la presencia de este pa-

tógeno en la leche, materia prima para elaborar el yogurt, se convierte en un peligro potencial para el consumidor, mas aún, si es preparado con leche sin pasteurizar o con pasteurización deficiente.

Los factores de riesgo que contribuyen a la contaminación microbiológica de la ensalada de frutas y yogurt natural, que se comercializan en la ciudad de Trujillo, fueron estudiados de acuerdo a la ficha de vigilancia sanitaria del Ministerio de Salud del Perú (Resolución Ministerial N° 282-2003-SA/DM, 2003). Se determinó que el 42,16% de los centros de expendio de la ciudad de Trujillo comercializan la ensalada de frutas y yogurt natural en mal estado de conservación. Los propietarios manifestaron que las frutas las adquirieron en el mercado de La Hermelinda, También la fruta se encontraba cortada en trozos en depósitos de plástico listas para servir, y algunas de ellas ya estaban en estado de descomposición; en tanto que el yogurt natural estaba expuesto a temperatura ambiente, lo que favorecería el incremento de la carga microbiana.

El 60,73% de los manipuladores de alimentos no aplican las buenas prácticas de manipulación en los centros de expendio de ensalada de frutas y yogurt natural de la ciudad de Trujillo, habiéndose encontrado las frutas y el yogurt en recipientes con limpieza inadecuada, las frutas almacenadas en desorden y en el piso, las cuales deberían estar seleccionadas, ordenadas y ubicadas en anaqueles a una altura mínima de 0,20 m del piso. Asimismo, la mayoría de centros de expendio no usan agua que contenga cloro residual en concentración conveniente (0,5 ppm), para lavar las frutas.

El 59,80% del personal que prepara y sirve las ensaladas de frutas no cumplían con las reglas higiénicas personales, es decir el personal que manipulaba estos alimentos se encontraba con las manos sucias, con joyas, uñas largas, sucias y/o con esmalte; cabello sin recoger; con maquillaje facial; sin uniforme o con el uniforme sucio y de color oscuro. Otro factor que contribuye a la contaminación microbiológica de las frutas para preparar las ensaladas es la condición higiénica sanitaria de los centros donde se expenden estos alimentos, y el 56,86% de estos centros son no aceptables; lo que involucra que se encuentran sucios y desordenados, los residuos sólidos se disponen de manera inadecuada, existe la presencia de vectores, roedores u otros animales. Todo esto contribuye a que la ensalada de frutas y el yogurt natural sufran una contaminación cruzada, debido a que no cuentan con un ambiente con buenas condiciones higiénicas sanitarias.

Las medidas de control positivas que se adopten frente a estos factores de riesgo de contaminación de ensalada de frutas y yogurt natural conducirán a la reducción de la presencia de *L. monocytogenes* en estos alimentos; pues la mayoría de los casos

de listeriosis está asociada al consumo de alimentos que no cumplen con las normas sanitarias mínimas; y en nuestro medio, el control sanitario, que está a cargo de las Municipalidades, es deficiente, lo que contribuye al incremento de las ETA.

IV. CONCLUSIONES

- *Listeria monocytogenes* está presente en la ensalada de frutas y el yogurt natural, comercializados en la ciudad de Trujillo (Perú).
- Existen factores de riesgo de contaminación que posibilitan que la ensalada de frutas y el yogurt natural actúen como vehículo de transmisión de la listeriosis humana.
- La ensalada de frutas y el yogurt natural comercializado en la ciudad de Trujillo (Perú), son un riesgo alimentario para la transmisión de listeriosis, en la población consumidora de estos alimentos.

IV. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Acuña, A., Alfonso, A., Algorta, G., Anchieri, D., Betancor, L. y Chabalgoity, A. (2005). Enfermedades transmitidas por alimentos en Uruguay. Montevideo: Organización Panamericana de la Salud.

Arias-Echandi, M. y Antillón, F. (2008). Contaminación microbiológica de los alimentos en Costa Rica. Una revisión de 10 años. Recuperado el 03 de abril del 2013, de <http://www.medigraphic.com/pdfs/revbio/bio-2000/bio002e.pdf>.

Berrocal, D., Arias, M., Henderson, M. y Wong, E. (2010). Evaluación de la actividad de cultivos probióticos sobre *Listeria monocytogenes* durante la producción y almacenamiento de Yogur. Recuperado el 20 de mayo del 2012, de http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S00040622200200040008&script=sci_arttext&lng=pt.

Carrascal, A., Albarracín, Y. y Sarmiento, P. (2007). Incidencia de *Listeria monocytogenes* en leche de vaca expendida en el municipio de Pamplona, Colombia. BISTUA. 5(2): 49-57.

Corpas, E. y Salazar, S. (2007). Estimación de *Listeria monocytogenes* en leche cruda y pasteurizada en una empresa de lácteos de la ciudad de Manizales durante el 2007. Informe Científico de la Universidad Católica de Manizales. Manizales, Colombia.

FAD (Food and Drug Administration). (2012). Frutas y verduras crudas: Cómo seleccionarlas y servir las de manera segura. Recuperado el 23 de mayo del 2012, de <http://www.fda.gov/Food/ResourcesForYou/Consumers/ucm174468>.

Frazier, W. y Wethoff, D. (2003). Microbiología de los alimentos. 4ª ed. Zaragoza. España: Acribia.

Garmendia, Y., Vergara, V., Morales, M., Benítez, E., López, R. y Rodríguez, Y. (2008). Listeriosis en embarazada: reporte de un caso. Rev. Soc. Ven. Microbiol. 28(2): 145-149.

Gombas, Chen, Y., Clavero, R. y Scott, V. (2003). Survey of *Listeria monocytogenes* in Ready to Eat Food. J. Food Prot. 66:559-569.

Harris, L., Farber, N., Beuchat, R., Parish, M., Suslow, T. y Garrett, E. (2003). Outbreaks associated with fresh produce: Incidence, growth, and survival of pathogens in fresh and fresh-cut produce. In Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 2: 25-27.

Hitchins, A. y Jinneman, K., (2008). Bacteriological analytical manual. *Listeria monocytogenes*. Food and Drug Administration. Gaithersburg: FDA US. Recuperado el 20 de mayo 2012, de <http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/ucm>

Jawetz, E., Melnik, J. y Adelberg, E. (2008). Microbiología médica. 19a ed. México D.F: El Manual Moderno.

Larraín, D., Abarzúa, F., De Jourdan, F., Merino, P., Belmar, C. y García, P. (2008). Infecciones por *Listeria monocytogenes* en mujeres embarazadas: experiencia del Hospital Clínico de la Pontificia Universidad Católica de Chile. Rev Chil Infect. 25 (5): 336-341.

Madigan, M., Martinko, J. y Parker, J. (2004). Biología de los microorganismos. 10a ed. Madrid. España: Pearson Prentice Hall.

Medrano, M., Restrepo, S. y Vanegas, M. (2006). Tipificación molecular de *Listeria monocytogenes* aisladas de muestras clínicas y alimentos. Biomédica. 26(3): 442-450.

Ministerio de Salud de Chile. (2009). Informe listeriosis. Ministerio de Salud de Chile - Departamento de Epidemiología, Santiago de Chile.

Ministerio de Salud del Perú. (2009). Información estadística sobre listeriosis – años 2001 al 2008. La Libertad. Gerencia Regional de Salud La Libertad – Oficina de Informática, Telecomunicaciones y Estadística, Trujillo.

Mossel, D. y Moreno, B. (2003). Microbiología de los alimentos. 2a ed. Zaragoza. España: Acribia.

Murray, P., Rosenthal, K. y Pfaller, M. (2009). Microbiología médica. 6a ed. Barcelona. España: Elsevier Science.

Norma Técnica Peruana NTP-ISO 2859-1. (2009). Procedimientos de muestreo para inspección por atributos. Lima: INDECOPI.

Ramírez, D. (2006). Manual del ingeniero de alimentos. Colombia: Grupo Latino Editores.

Resolución Ministerial N° 282-2003-SA/DM. (2003). Reglamento sanitario de funcionamiento de mercados de abasto: Diario Oficial El Peruano, Año XXI, N° 8302, (13 de marzo de 2003).

Schöbitz, R., Ciampi, L. y Nahuelquin, Y. (2009). Listeria monocytogenes. Un peligro latente para la industria alimentaria. AGRO SUR. 37(1): 1-8.

Uriarte, S. (2008). Enfermedades transmitidas por los alimentos. Recuperado el 30 de mayo del 2012, de <http://todosunidos.blogia.com/2008/052709-enfermedades-transmitidas-por-alimentos.php>.

Vásquez, G. (2003). La contaminación de los alimentos, un problema por resolver. Salud UIS. 35: 48-57.

Winn W, Allen S, Janda W, Koneman E, Procop, G, y Schreckenberger, P. (2008). Diagnóstico microbiológico. 6a ed. Buenos Aires. Argentina: Editorial Médica Panamericana.