

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA  
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**



**DETERMINACIÓN DE *Listeria monocytogenes* EN LOMO  
RELLENO EXPENDIDO EN SUPERMERCADOS DE LA  
CIUDAD CAPITAL DE GUATEMALA**

**ALBA VIRGINIA COLÓN SAMAYOA**

**Médica Veterinaria**

**GUATEMALA, FEBRERO DE 2015**

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA  
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**



**DETERMINACIÓN DE *Listeria monocytogenes* EN LOMO  
RELLENO EXPENDIDO EN SUPERMERCADOS DE LA CIUDAD  
CAPITAL DE GUATEMALA**

**TRABAJO DE GRADUACIÓN**

**PRESENTADO A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD**

**POR**

**ALBA VIRGINIA COLÓN SAMAYOA**

Al conferírsele el título profesional de

**Médica Veterinaria**

En el grado de Licenciada

**GUATEMALA, FEBRERO DE 2015**

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**  
**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**  
**JUNTA DIRECTIVA**

DECANO:	M.Sc. Carlos Enrique Saavedra Vélez
SECRETARIA:	M.V. Blanca Josefina Zelaya de Romillo
VOCAL I:	Lic. Sergio Amílcar Dávila Hidalgo
VOCAL II:	M.Sc. Dennis Sigfried Guerra Centeno
VOCAL III:	M.V. Carlos Alberto Sánchez Flamenco
VOCAL IV:	Br. Javier Augusto Castro Vásquez
VOCAL V:	Br. Andrea Analy López García

**ASESORES**

DRA. JACQUELINE ESCOBAR MUÑOZ  
M.V. JULIA VIRGINIA BOLAÑOS DE CORZO  
M.A. JAIME ROLANDO MÉNDEZ SOSA

## **HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR**

En cumplimiento con lo establecido por los reglamentos y normas de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración el trabajo de graduación titulado:

### **DETERMINACIÓN DE *Listeria monocytogenes* EN LOMO RELLENO EXPENDIDO EN SUPERMERCADOS DE LA CIUDAD CAPITAL DE GUATEMALA**

Que fuera aprobado por la Honorable Junta Directiva de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Como requisito previo a optar al título de:

**MÉDICA VETERINARIA**

## **ACTO QUE DEDICO A:**

- A Dios: por darme una vida llena de bendiciones, por escuchar mis oraciones, por darme fortaleza, paciencia y sabiduría para alcanzar este triunfo.
- A mis padres: Alba y Marcelino a quienes amo con toda mi alma y fueron el apoyo incondicional a lo largo de la carrera. Mil gracias por su dedicación, esfuerzo, paciencia, amor y sabios consejos. Este triunfo es también de ustedes
- A mis hermanos: Gabriela y Alejandro, quienes con su ejemplo me han enseñado a ser una persona perseverante y enfocarme en lograr mis metas, los quiero mucho y gracias por compartir conmigo esta meta.
- A mis amigos y amigas: por compartir momentos inolvidables en las aulas, en el hospital, en las giras inolvidables y en fiestas. Gracias por sus palabras de ánimo y por acompañarme en las buenas y en las malas. Especialmente a la Tepha, Carmencha, Repo, Deborah, Zamora, Wicho, Wale, Godzu, Clau, Link, Esgar, al engazado, aladino, Carlos, a la Chanchis y a la Gusa.
- A mi amiga: Sofí, por ser como una hermana, gracias por tu apoyo incondicional y cariño, por escucharme y estar en todo momento conmigo. Te quiero mucho sis.
- A mi novio: Wilder por estar a mi lado en este proceso, y por demostrarme su amor, paciencia y apoyo en todo momento. Tenerte a mi lado es esencial ahora en mi vida.

## **AGRADECIMIENTOS**

- A: la Universidad de San Carlos de Guatemala y a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia por ser mi casa de estudio.
- A: el departamento de Microbiología de la FMVZ por su apoyo en la realización de mi trabajo de investigación.
- A: mis asesores Dra. Jacqueline Escobar, M.V. Virginia de Corzo, M.V. Jaime Méndez por haberme asesorado en mi trabajo de investigación.
- A: la Dra. Jacqueline Escobar por su dedicación, apoyo, paciencia y consejos.
- A: mis catedráticos por toda la enseñanza brindada a lo largo de la carrera.
- A: todas aquellas personas que de forma directa o indirecta me brindaron su ayuda en la realización de este trabajo de investigación.

# ÍNDICE

<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>II. OBJETIVOS</b> .....	3
2.1 Objetivo General.....	3
2.2 Objetivo Específico.....	3
<b>III. REVISIÓN DE LITERATURA</b> .....	4
3.1 Enfermedades transmitidas por alimentos (ETA's).....	4
3.2 <i>Listeria monocytogenes</i> en alimentos listos para consumo.....	5
3.2.1 Factores de riesgos.....	6
3.3 Mecanismo de transmisión.....	8
3.4 Características generales de <i>Listeria monocytogenes</i> .....	9
3.4.1 Factores de virulencia.....	10
3.4.2 Estructura antigénica.....	11
3.4.3 Resistencia.....	11
3.4.4 Distribución natural.....	12
3.5 Métodos de diagnóstico.....	13
3.5.1 Técnicas inmunológicas.....	13
3.5.2 Técnicas moleculares.....	14
3.5.3 Métodos microbiológicos.....	15
3.5.3.1 Modo de acción de medios de cultivo.....	15
3.6 Alimentos cárnicos.....	16
3.6.1 Lomo relleno.....	17
<b>IV. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	19
4.1 Materiales.....	19
4.1.1 Recursos humanos.....	19
4.1.2 Recursos biológicos.....	19
4.1.3 Recursos de campo.....	19
4.1.4 Recursos de laboratorio.....	19

4.2	Metodología.....	21
4.2.1	Diseño del estudio.....	21
4.2.2	Tamaño de la población.....	22
4.2.3	Análisis microbiológico.....	22
4.2.4	Análisis estadístico.....	24
<b>V.</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>25</b>
<b>VI.</b>	<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>31</b>
<b>VII.</b>	<b>RECOMENDACIONES.....</b>	<b>32</b>
<b>VIII.</b>	<b>RESUMEN.....</b>	<b>33</b>
	<b>SUMMARY.....</b>	<b>34</b>
<b>IX.</b>	<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>35</b>
<b>X.</b>	<b>ANEXOS.....</b>	<b>39</b>



## ÍNDICE DE CUADROS

### **Cuadro 1.**

Parámetros de supervivencia y multiplicación para *Listeria monocytogenes*  
en el alimento.....12

### **Cuadro 2.**

Resultados obtenidos mediante cultivo y aislamiento.....25

### **Cuadro 3.**

Resultados obtenidos en la identificación de *Listeria monocytogenes*.....26

### **Cuadro 4.**

Características de las muestras de lomo relleno.....27

## ÍNDICE DE FIGURAS

### **Figura 1.**

Muestras procesadas de lomo relleno.....26

### **Figura 2.**

Resultados obtenidos según la cadena de supermercados.....28

## I. INTRODUCCIÓN

*Listeria monocytogenes*, es el agente causal de la enfermedad transmitida por alimentos conocida como listeriosis, produciendo daño en las personas especialmente a recién nacidos, lactantes, embarazadas y sus fetos, ancianos y personas inmunocomprometidas. Puede abandonar el sistema digestivo y colonizar médula espinal. Sin embargo, al inicio puede presentarse en forma de cuadro intestinal con fiebre, dolor abdominal, diarrea y cefaleas en individuos sanos con un periodo de incubación de un día, volviéndose como casos desapercibidos. Las personas que presentan este cuadro clínico, reciben un tratamiento para aliviar síntomas, pero no determinan el diagnóstico de la enfermedad.

Esta enfermedad es conocida a nivel mundial debido a los brotes ocasionados desde la década de 1980 en Norteamérica y Europa; un brote vinculado a un queso de tipo mexicano produjo la muerte a 52 personas en 1985 en Los Ángeles, California (Domínguez, 2010). En Italia en 1996 se demostró la presencia de *Listeria monocytogenes* en una ensalada de atún con maíz, afectando a alumnos y docentes en dos comedores estudiantiles (Leardini, 2007). En Chile entre los años 2008-2009 se reportó un brote epidémico provocado por alimentos de origen animal, como cecinas, embutidos, quesos y otros lácteos; hasta agosto de 2009 se registraron un total de 164 casos, con un total de 16 personas fallecidas, entre quienes se detectaron distintas cepas de la bacteria (Schöbitz, 2009). En el año 2013 se confirmaron 33 casos de *Listeria monocytogenes*, un 53% del total de casos fueron mujeres, 25% corresponden a personas de 65 años, 22% a mujeres entre 15 a 44 años, 6 de ellas embarazadas, 22% a recién nacidos la mayoría de sexo masculino (Ministerio de Salud del Gobierno de Chile, 2013).

En Guatemala se han realizado pocas investigaciones que reflejen la impor-

tancia de *Listeria monocytogenes* en alimentos, a pesar que listeriosis es una enfermedad transmitida por estos. Por lo que, en el año 1997 en la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia se realizó un trabajo de tesis orientado a la determinación de *Listeria monocytogenes* en quesos de producción comercial en Guatemala utilizando el método USDA (United States Department of Agriculture), obteniendo como resultado 5.49% de quesos positivos de noventa y uno que se muestrearon (Gálvez, 1997).

En el mercado existen muchos alimentos cárnicos listos para el consumo entre estos el lomo relleno. Este producto cárnico procesado puede ocasionar problema ya que se utiliza como un alimento listo para consumo o simplemente no lleva a cabo una completa cocción del mismo, por lo que se vuelve un alimento de riesgo especialmente en personas inmunosuprimidas, niños o mujeres embarazadas, pudiendo ocasionar problemas de salud anteriormente mencionados. El proceso de elaboración del lomo relleno, la temperatura de almacenamiento (refrigeración de 0°C- 4°C y en congelación a -18°C) y el largo periodo de almacenamiento en los anaqueles de supermercados (periodo de 30 días en refrigeración y de 3 meses en congelación) son factores que contribuyen a que la bacteria se multiplique favoreciendo la producción de brotes (Blanco, 1994).

Debido a lo antes citado se hace necesaria la determinación del agente sobre alimentos cárnicos procesados como el lomo relleno, ya que no se ha llevado a cabo una investigación orientada hacia este tipo de producto.

## **II. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo general**

Contribuir al conocimiento de la presencia de *Listeria monocytogenes* en alimentos cárnicos procesados expendidos en supermercados de la ciudad capital de Guatemala.

### **2.2 Objetivo específico**

Determinar la presencia por cultivo y aislamiento de *Listeria monocytogenes* en lomo relleno expendido en supermercados de la ciudad capital de Guatemala.

### III. REVISIÓN DE LITERATURA

#### 3.1. Enfermedades transmitidas por alimentos (ETA´s)

Una Enfermedad Transmitida por Alimentos (ETA´s) es el síndrome originado por la ingestión de alimentos o agua, que contengan agentes etiológicos en cantidades tales que perjudiquen la salud del consumidor o a un grupo de personas de una población. La incidencia de diversas enfermedades causadas por la ingestión de alimentos que carecen de calidad e inocuidad, es influenciada desde la obtención de la materia prima del alimento hasta el consumo del producto, ya que sin el control adecuado, el alimento se convierte en un producto de riesgo para la salud. Esto puede ocurrir en los alimentos de consumo popular, como en la venta de alimentos en las calles o negocios públicos, así como también a nivel de la preparación de los alimentos en el hogar. (Kooper, 2009)

La OMS, ha notificado siete patógenos principales involucrados en las ETA´s: *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella spp.*, *Campylobacter jejuni*, *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus*, *Toxoplasma gondii* y *Listeria monocytogenes*. (González, 2008; Muñoz, 2013).

La Listeriosis es un ejemplo de una enfermedad transmitida por alimentos que ha jugado un papel importante en la industria alimentaria, causando alarma en productores de alimentos, consumidores y autoridades sanitarias. Es una enfermedad poco común, pero grave, con tasas de letalidad altas (20-30%), en comparación con otros microorganismos patógenos transmitidos por alimentos. (FAO/OMS, 2004).

Por ello, se detallará más información acerca de la enfermedad y del agente etiológico, *Listeria monocytogenes*, en el presente trabajo.

### **3.2. *Listeria monocytogenes* en alimentos listos para consumo**

La *Listeria monocytogenes* puede encontrarse en los productos listos para el consumo como cecinas crudas fermentadas, ensaladas preparadas, productos lácteos elaborados con leche cruda, pescado ahumado y productos cárnicos (carne de vaca, cerdo, jamón, salchichas, paté, carnes picadas de diversos orígenes). En estos últimos la contaminación de *Listeria monocytogenes* es principalmente superficial, excepto en los productos molidos o pastas de carnes, donde se encuentra la bacteria en toda la masa, sobreviviendo y desarrollándose durante el almacenamiento (Leardini, 2007; Schöbitz, 2009).

La prevalencia de contaminación en productos cárnicos ya sean crudos o procesados, puede ser muy alta entre 1 a 70%. El desarrollo de *Listeria monocytogenes* sobre carnes depende de factores como el pH (menor de 4 se destruye), temperatura a la que está expuesta, tipo de tejido (magro o graso) y presencia o ausencia de conservantes (Leardini, 2007).

Para reducir la contaminación de alimentos, el patógeno debe ser atacado con higienizantes en lugares donde se procesen los alimentos, sin embargo uno de los problemas que enfrenta la industria alimentaria es que los productos químicos (como amonios cuaternarios y compuestos clorados) utilizados para higienizar las superficies del equipo no asegura la eliminación del patógeno o pierden su efectividad en presencia de materia orgánica, como es el caso del cloro. Esto se debe a que *L. monocytogenes* forma "biofilm" en superficies donde han quedado residuos orgánicos lo cual dificulta la acción de los higienizantes. El biofilm es una estructura constituida por microorganismos que se encuentran en una membrana de exopolisacáridos secretados por ellos mismos y anclados a la superficie sobre la cual se forman, por lo tanto representa un sistema muy eficaz de protección para los microorganismos frente a condiciones ambientales

adversas como variaciones de temperatura, agentes antimicrobianos e higienizantes (Schöbitz, 2009).

La presencia de *Listeria monocytogenes* en alimentos se debe a que las empresas no ejecutan los lineamientos descritos en los documentos sobre Buenas Prácticas de Manufactura (BPM's) los cuales abarcan el saneamiento, manipulación de materias primas e higiene del personal, así también como programas de muestreo ambiental y de productos finales; sin el seguimiento de estos procesos se observan constantes problemas tanto en la presencia de *Listeria monocytogenes* como de *Listeria spp* y de otras bacterias. Por lo que se deben de ejecutar los lineamientos con el fin de controlar y/o erradicar la presencia de microorganismos patógenos (FAO/OMS, 2001)

### **3.2.1. Factores de riesgos**

Factores que contribuyen a adquirir listeriosis a través de alimentos listos para consumir:

- Cantidad y frecuencia de consumo del alimento: Para calcular el número de microorganismos consumidos, es necesario examinar también la cantidad y la frecuencia de consumo del alimento, es decir, el tamaño y el número de porciones consumidas. Por ejemplo un estudio realizado por la FAO, el riesgo por unidad de consumo de la leche es bajo ( $5,0 \times 10^{-9}$  casos por unidad de consumo), pero dada su alta frecuencia de consumo, la contribución de la leche al número total de casos de enfermedad pronosticados es considerable. Por el contrario, el riesgo estimado por unidad de consumo del pescado ahumado es alto ( $2,1 \times 10^{-8}$  casos por unidad de consumo), pero el consumo de este producto es escaso (1 a 18 unidades al año), por lo que el número total de casos de listeriosis es moderado (FAO/OMS, 2004; Domínguez, 2010 y Michanie, 2004)



- Frecuencia de la contaminación del alimento con *L. monocytogenes*: cuando incrementa la frecuencia de contaminación o el nivel de contaminación, el riesgo y el número pronosticado de casos también lo hace. Si la concentración microbiana aumentara en los alimentos listo para consumo de 1 UFC por unidad de consumo a 1000 UFC por unidad de consumo, el riesgo de listeriosis se multiplicaría por 1000 (FAO/OMS, 2004)
- Posibilidad del alimento de permitir el desarrollo de *L. monocytogenes*: se desarrolla en el alimento cuando este presenta las condiciones adecuadas de crecimiento de *L. monocytogenes* como temperatura (resistencia al calor 40-45°C, al frío 0-4°C), tolerancia de sal (25%), alimentos con pH mayor a 4.4 (9,6 óptimo para su multiplicación), actividad de agua ( $a_w$ ) mayor a 0.92 y productos con una vida útil mayor de 5 días (Domínguez, 2010).
- Temperatura de refrigeración de la cámara fría: *Listeria monocytogenes* puede multiplicarse a temperaturas de refrigeración (0-4°C) hasta alcanzar concentraciones altas, si transcurre suficiente tiempo. La gran importancia de la refrigeración en la conservación, transporte y distribución de alimentos, favorece a *L. monocytogenes* a desarrollarse mejor a temperaturas frías que son letales para los microorganismos competidores (Michanie, 2004)
- Duración del alimento en la cámara fría: se relacionan con la presencia de *Listeria monocytogenes* en los alimentos listos para consumo que se conservan refrigerados por un periodo prolongado de tiempo (30 días en refrigeración y 3 meses en congelación) o con los contaminados post procesamiento térmico (Domínguez, 2010; Michanie, 2004).
- Cantidad de *L. monocytogenes* presente en el alimento al momento del consumo: El número de células bacterianas que deben ingerirse para que se presente el cuadro aún no está claramente definido, pero se ha establecido

que al consumir un alimento que contenga menos de 100 UFC/g (según International Commission on Microbiological Specifications for Food - ICMSF) no debería presentarse el cuadro en individuos que no pertenecen al grupo de riesgo (Michanie, 2004; Schöbitz, 2009).

### **3.3. Mecanismo de transmisión**

Los alimentos listos para el consumo son la causa primaria de la infección con *L. monocytogenes*, transmitida por alimentos cocidos que se contaminan luego del proceso térmico, estos tienen vida útil muy prolongada en frío (óptimo para que la bacteria se multiplique) y se consumen sin tratamiento previo; también están los alimentos crudos, que si estos no se protegen con material impermeable al agua y al polvo durante la carga y transporte pueden contaminarse; así también la manipulación que los operarios tengan en ese tipo de alimento. Se considera que la transmisión de esta enfermedad se realiza esencialmente por vía digestiva. El periodo de incubación para la presentación de los síntomas varía desde un día hasta tres meses. El 99% de los casos es de origen alimentario, por ejemplo en Estados Unidos se presentan 1 a 9 casos de listeriosis/millón de habitantes/año y representan el 0.02% de las enfermedades que se transmiten por los alimentos, lo cual indica que es una enfermedad poco común, pero la complicación radica en que entre el 20 y 30% ocasiona la muerte (Leardini, 2007; Michanie, 2004; Schöbitz, 2009).

La presencia de *Listeria monocytogenes* en materias primas tales como leche, carne, pescado y vegetales, refuerzan la necesidad de establecer barreras que minimicen su ingreso a los lugares de proceso, especialmente en aquellos puntos donde el alimento no es sometido a un tratamiento que permita la destrucción del patógeno. La presencia de microbiota en alimentos listos para el consumo es producto de tres etapas y condiciones de su elaboración. En la primera etapa se lleva a cabo el proceso térmico que reduce la carga microbiana,

si el proceso es el correcto, el producto es microbiológicamente seguro y apto para el consumo. En la segunda etapa se realizan operaciones como el rebanado, pesado y empaclado, durante esta última puede contaminarse el producto. La tercera etapa corresponde al almacenamiento en refrigeración, lo cual puede permitir el desarrollo de microorganismos psicrótrofos representando un riesgo para el consumidor final (Domínguez, 2010; Mendoza, 2009).

*Listeria monocytogenes* se adhiere a diferentes superficies (acero inoxidable, vidrio y caucho) formando biopelículas en equipos de las fábricas procesadoras y en los alimentos. Entre las superficies más críticas a donde se adhiere el microorganismo y la posterior transferencia al alimento están las cuchillas de máquinas loncheadoras, fileteadoras y las cintas transportadoras. El control para evitar la formación de biopelículas se centra en promover buenos métodos de sanitización, debido a que una vez que *Listeria monocytogenes* ha contaminado una planta de procesamiento de alimentos puede persistir por largos periodos de tiempo (Schöbitz, 2009; Betelgeux, 2013).

#### **3.4. Características generales de *Listeria monocytogenes***

Son bacilos gram positivos, no esporulados, no capsulados, no ramificados, casi cocoides, aislados en cadenas cortas, aerobio-anaerobios facultativos. Por su presencia cocobacilar y por formar a veces cadenas cortas, pueden ser confundidos con estreptococos, así como con corinebacterias cuando presentan su forma bacilar, aislados o en pares. Son microorganismos móviles de 1 a 5 flagelos peritricos, los cuales se generan mejor a temperaturas menores de 25°C, siendo su motilidad mayor a temperatura ambiente que por incubación a 36-37°C, ya que a estas temperaturas son aflagelados o tienen sólo un flagelo y aparecen como inmóviles. Son catalasa positiva, oxidasa y ureasa negativas, y  $\beta$  hemolíticos en agar sangre. Se le considera un patógeno psicrótrofo, es decir, capaz de desarrollarse a temperaturas de refrigeración, lo cual le diferencia de bacterias

patógenas como *Salmonella* o *Staphylococcus aureus*, que son inhibidas en su crecimiento a bajas temperaturas (Michanie, 2004; Schöbitz, 2009).

Las colonias son pequeñas de 1 a 2 mm de diámetro al cabo de 1-2 días de incubación a 36°C, lisa, brillante. Cuando se las observa con luz oblicua, adquieren un tono azulado pálido (Leardini, 2007).

El género *Listeria* concentra numerosas especies: *Listeria innocua*, *L. welshimeri*, *L. seeligeri*, *L. ivanovii*, *L. grayi* y *L. monocytogenes*; sólo esta última se ha mostrado patógena al hombre (Michanie, 2004).

El rango óptimo de temperaturas para su desarrollo es de 30°C a 37°C, pero pueden crecer en pocos días a temperaturas tan bajas como 4°C. Constituye un gran problema para la industria alimentaria, tan dependiente del mantenimiento de las cadenas de frío. La temperatura máxima de crecimiento asciende a 45-50°C. El rango de pH es de 5.6 a 9.6, con un pH óptimo de 7.0; en medios microbiológicos puede crecer a un pH mayor o igual a 4.4, siendo un factor importante la temperatura de incubación (Gálvez, 1997; Leardini, 2007).

#### **3.4.1. Factores de virulencia**

Han sido identificados varios factores de virulencia de *Listeria monocytogenes*: la hemolisina (listeriolisina O), dos fosfolipasas, una proteína (ActA) y varias internalinas. *Listeria monocytogenes* se encapsula en un compartimiento unido a la membrana. En los fagocitos la mayor parte de los microorganismos son probablemente destruidos dentro de la vacuola fagocítica. Los que logran sobrevivir en la vacuola o en el compartimiento unido a la membrana de los fagocitos, se liberan por lisis de la vacuola, regida por la listeriolisina O (LLO) y una fosfatidil inositol fosfolipasa (PI-PLC). La bacteria ingresa al citoplasma de la célula hospedadora, donde se multiplica. Luego se produce la polimerización de la actina y el

movimiento intracelular, regidos por el gen *actA*, para finalmente llegar a la diseminación célula-célula mediante una fosfatidil colina fosfolipasa (PC-PLC) (Leardini, 2007).

### 3.4.2. Estructura antigénica

*Listeria monocytogenes* posee factores antigénicos somáticos (O) termoestables y flagelares (H) termolábiles. Se clasifican en 4 serogrupos por antígeno somático: 1/2, 3, 4 y 7. En cuanto a su antígeno flagelar, se distinguen 13 serovariedades. El serogrupo 1/2 con serovariedades a, b, c y d; grupo 3, serovares a, b, c, d; grupo 4 con 3 serovares a, b, c; grupo 7, serovares a, b, c.

La mayoría de los aislamientos humanos corresponden a los serotipos 4b, 1/2a y 1/2b (Leardini, 2007; Pascual, 1989).

### 3.4.3. Resistencia

La importancia de la resistencia de *Listeria monocytogenes* para su desarrollo y multiplicación en los alimentos depende de las características intrínsecas del producto tales como el pH (multiplicándose en las proximidades de pH 9.6);  $a_w$  0.97 (entre mayor sea, más propenso está el alimento a la contaminación, así como en la carne la  $a_w$  es de 0.98 y en embutidos cocidos, carnes curadas y productos cárnicos es entre 0.93-0.98). Las características extrínsecas del alimento tales como la temperatura de almacenamiento (0-4°C), humedad relativa; así como el proceso utilizado en su elaboración (cocinado, ausencia de procesos térmicos y presencia o no de conservantes). Sobrevive a concentraciones de 25% de sal, desarrollándose a tasas de 10%, incluso, con 20% (Gimferrer, 2008; Elika, 2006; Pascual, 1989).

Los biofilm representan un sistema de protección para *Listeria monocytoge-*

nes frente a condiciones ambientales adversas como variaciones de temperatura y agentes antimicrobianos, de esa forma es más resistente a los agentes químicos y físicos sobreviviendo por largos periodos con aportes mínimos de nutrientes (Elika 2006; Leardini, 2007).

**Cuadro No. 1 Parámetros de supervivencia y multiplicación para *L. monocytogenes* en alimento**

Parámetro	mínimo	Máximo	óptimo	Puede sobrevivir pero no crecer
<b>Temperatura (°C)</b>	4	45	30 – 37	-18
<b>pH</b>	4.3	9.4	7	3.3 – 4.2
<b>a<sub>w</sub></b>	0.92	>0.99	0.97	<0.90
<b>Sal (%)</b>	<0.5	12-16	—	>20

Fuente: ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods), 1996.

#### 3.4.4. Distribución natural

*Listeria monocytogenes* por su ubicuidad suele encontrarse con frecuencia en las plantas de producción de alimentos, en sumideros, estructuras e instalaciones elevadas, zonas no visibles (difíciles de limpiar), el suelo, aguas estancadas, equipos de procesamiento, cintas transportadoras, cámaras de frío, mangueras agrietadas y túneles de congelación. Su crecimiento en este entorno se ve favorecido por la alta humedad y la presencia de nutrientes. Se ha aislado de alimentos procesados crudos incluyendo productos lácteos, vegetales, carnes y mariscos (Gálvez, 1997; Leardini, 2007; Schöbitz, 2009).

En las plantas procesadoras de alimentos, pueden establecerse y persistir un número limitado *L. monocytogenes* durante años. Esto se refiere a que existen cepas persistentes, sin embargo no está claro que las cepas persistentes posean

fenotipos diferentes a las esporádicas, es decir, que posean propiedades únicas que favorezcan la persistencia. Al hablar de cepas esporádicas se refieren a aquellas que se han introducido en la planta pero son destruidas por los procesos habituales de limpieza y desinfección; las cepas persistentes se identifican repetidamente en los análisis de superficies durante meses e incluso durante años. Para que *L. monocytogenes* desarrolle la persistencia en una planta procesadora, es debido a los factores ambientales (temperatura, humedad y nutrientes), capacidad para formar biofilms, tolerancia o adaptación a los desinfectantes y a las deficiencias en la higiene (Betelgeux, 2013).

### **3.5. Métodos de diagnóstico**

La búsqueda del microorganismo se debe realizar a partir de muestras de origen alimentario. Se han descrito varias técnicas inmunológicas y moleculares para el aislamiento a partir de alimento (Leardini, 2007).

Se describen brevemente los métodos inmunológicos y moleculares para luego detallar los métodos microbiológicos de enriquecimiento, aislamiento e identificación de *Listeria monocytogenes*.

#### **3.5.1. Técnicas inmunológicas**

Se basan en el empleo de anticuerpos monoclonales obtenidos frente a proteínas presentes en todas las especies del género aplicados a una técnica ELISA, sin embargo solo pueden detectar la presencia o ausencia de *Listeria* en la muestra, sin confirmar la especie. Es por eso que se debe continuar el proceso hasta la identificación de la especie presente. Ejemplos de estas técnicas son:

- VIDAS-*Listeria*: Empleado en la detección de antígenos de *Listeria spp.* En carnes procesadas y de ave. Ha sido validado por la Asociación Francesa de

Normalización (AFNOR) y por el Plan de Evaluación de los Métodos Microbiológicos Europeos (EMMAS) (Blanco, 1994; OIE, 2004)

- Listeria-Tek: Para la detección de *Listeria spp.* en productos lácteos, carnes y mariscos. La prueba no es confirmatoria para *L. monocytogenes* debido a que utilizan anticuerpos monoclonales produciendo reacciones cruzadas con otras *Listeria spp.* (Blanco, 1994; OIE, 2004).

Existen otras pruebas inmunológicas para este microorganismo como la inmunofluorescencia directa y una técnica de microcolonias. Sin embargo, al igual que las pruebas de ELISA estas no son específicas y requieren de una confirmación posterior de la presencia de *L. monocytogenes* (Blanco, 1994).

### **3.5.2. Técnicas moleculares**

Se ha desarrollado para la detección de *L. monocytogenes* mediante el uso de sondas genéticas y su aplicación a las técnicas de hibridación de ácidos nucleicos. La especificidad de las sondas varía dependiendo de los genes e incluso de los fragmentos de estos elegidos para su elaboración, la mayoría de sondas toman como base al gen que codifica el ARN 16S diferenciándola del resto de los géneros o fragmentos que codifica la  $\beta$ -hemolisina de *L. monocytogenes*. Los resultados han sido eficaces para el análisis de Listeria en alimentos, obteniendo niveles de sensibilidad y especificidad de hasta el 100% en el caso de muestras inoculadas y de 97% en caso de productos naturalmente con Listeria (Blanco, 1994).

Otro método para la detección de *L. monocytogenes* es la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) basándose en la amplificación de fragmentos del gen de la hemolisina y regiones diagnósticas del gen que codifica



el ARN 16S. La sensibilidad de esta técnica es alta cuando se aplica tras una fase de enriquecimiento de la muestra (Blanco, 1994; OIE, 2004).

### **3.5.3. Métodos microbiológicos**

Ha sido la metodología empleada tradicionalmente para la detección y el aislamiento de *L. monocytogenes* a partir de muestras de alimento, y requiere el uso de agentes selectivos y procedimientos de enriquecimiento que mantengan los niveles de microorganismos contaminantes en valores menores y así permitir la multiplicación de *L. monocytogenes* (Blanco, 1994; OIE, 2004).

A continuación se describen los medios de cultivo que se utilizaron en esta investigación.

#### **3.5.3.1. Modo de acción de medios de cultivo**

- **Caldo de enriquecimiento selectivo de FRASER Listeria**

#### **Modo de acción**

Se crean condiciones de crecimiento óptimo para *Listeria monocytogenes* debido al alto contenido de nutrientes y la capacidad de búfer. El crecimiento de bacterias concomitantes es inhibido por cloruro de litio, ácido nalidíxico y clorhidrato de acriflavina. La detección de la actividad  $\beta$ -D-glucosidasa de *Listeria* es posible mediante la adición de esculina y citrato de hierro (III). La esculina de glucosa es clavada por  $\beta$ -D-glucosidasa en esculetina y glucosa. La esculetina forma entonces un verde oliva a negro con los iones de hierro (III). Por lo tanto, durante el crecimiento de *Listeria* en caldo FRASER, se observa generalmente un ennegrecimiento del caldo. Puede lograrse un mayor enriquecimiento de *Listeria* en comparación con el método estándar, utilizando el método de enriquecimiento

de dos etapas con una concentración inicialmente a la mitad de ácido nalidixico y clorhidrato de acriflavina (Manual Merck de Microbiología).

- **Suplemento de Listeria de Fraser**

**Modo de acción**

El citrato de hierro (III) promueve el crecimiento de la *Listeria monocytogenes* y, junto con esculina, permite la detección de  $\beta$ -D-glucosidasa en Listeria. El suplemento selectivo es una mezcla de acriflavina y ácido nalidíxico en forma liofilizada. En gran medida inhibe el crecimiento de bacterias concomitantes por un enriquecimiento selectivo de Listeria (Manual Merck de Microbiología).

- **Agar Listeria OTTAVIANI y AGOSTI (ALOA®)**

**Modo de acción**

Agar Listeria Ottaviani y Agosti (ALOA), con suplementos selectivos y de enriquecimiento, es un medio selectivo y diferencial para la identificación de *L. monocytogenes*. La selectividad del medio es debido a cloruro de litio y la adición de una mezcla antimicrobiana selectiva que contiene ceftazidima, polimixina B, ácido nalidíxico y cicloheximida. La actividad específica se obtiene por medio de 2 sustratos: L- $\alpha$ -fosfatidil-inositol para un enzima fosfolipasa C específica para *L. monocytogenes* produciendo un halo opaco alrededor de la colonia; y X- $\beta$ -Glucopyranoside lo que produce colonias de color azul-verdoso (Bernier, 2005; Biolife, 2005).

### **3.6. Alimentos cárnicos**

El consumo de carnes pre cocidas y refrigeradas, alimentos a base de carne

listos para el consumo, productos cárnicos procesados de aves, res, cerdo y productos marinos previamente cocidos y refrigerados han experimentado un aumento en el consumo a nivel nacional debido a lo agitado de las jornadas de trabajo y de estudio, ya que se han convertido en productos de fácil preparación en los hogares de los guatemaltecos. Es por esto que en esta investigación se hace referencia al producto cárnico precocido: lomo relleno.

### **3.6.1. Lomo relleno**

El lomo relleno es un producto elaborado a base de una mezcla cárnica de pollo y cerdo para el consumo humano, con la adición de grasas comestibles, condimentos, preservantes y sales, su forma es en rodajas redondas, colocado en bandejas con una funda termo-encogible, ya empacado es refrigerado para su conservación de 0 a 4°C, con un tiempo de vida en anaquel de treinta días bajo condiciones de refrigeración recomendadas (Blanco, 1994; Tirado, Paredes, et.al., 2005).

La contaminación del lomo relleno con *Listeria monocytogenes* puede ocurrir en cualquier paso del procedimiento que éste requiere, ya que son muchos los factores o condiciones que influyen durante el proceso. Las manos del personal que manipulan los alimentos, pueden estar contaminadas con otras bacterias como, *E. coli*, *S. aureus*, *Salmonella spp.*, por lo que también tienen un papel importante en la contaminación por *Listeria monocytogenes*. Otro factor contaminante es la resistencia que puede crear *Listeria monocytogenes* a los agentes antimicrobianos, como hipocloritos, nitritos, entre otros. Si en las superficies quedan bacterias viables después de una limpieza ineficaz, éstas se adhieren a la superficie formando microcolonias las cuales son resistentes al hipoclorito (Blanco, 1994).

Esta contaminación se puede evitar si la limpieza se realiza con intervalos de

24 horas o menos, ya que no se permite la formación de microcolonias. Lo anterior mencionado es producido porque las células de la microcolonia adherida forman una capa que previene la penetración del agente químico. Tomando en cuenta que siendo una bacteria Gram positiva posee el ácido lipoteicóico extracelular, el cual siendo lipofílico, previene la penetración de sanitizantes (Blanco, 1994).

## **IV. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **4.1. Materiales**

#### **4.1.1 Recursos humanos**

- Estudiante
- Asesores
- Técnicos de laboratorio

#### **4.1.2 Recursos biológicos**

- 30 muestras de lomo relleno expandidas en supermercados de la capital.

#### **4.1.3 Recursos de campo**

- Hielera
- Hielo
- Bandeja de duroport con plástico
- Libreta de apuntes
- Lapicero
- Marcador
- Cámara fotográfica
- Cronómetro

#### **4.1.4 Recursos de laboratorio**

##### **Equipo**

- Incubadora a 30°C y 37°C

- Balanza con capacidad de 610 gr.
- Microscopio
- Refrigeradora
- Autoclave
- Incinerador de asas
- Vortex
- Campana de flujo laminar

### **Material**

- Gradillas de metal
- Bolsas estériles Whirl-pak Nasco
- Papel para pesar
- Guantes
- Tijeras estériles
- Pinzas estériles
- Asa bacteriológica
- Tubos de ensayo
- Probetas de 250ml.
- Beakers de 500ml.
- Erlenmeyer de 1000ml.
- Micropipeta de 20 $\mu$ l y 1000 $\mu$ l
- Pipetas de 20 $\mu$ l y 1000 $\mu$ l
- Portaobjetos
- Bandejas
- Placas de Petri

### **Reactivos**

- Coloración Gram

- Cristal violeta
- Lugol
- Safranina
- Alcohol acetona
- Reactivo catalasa (peróxido de hidrogeno al 3%)
- Agua destilada estéril
- Agua destilada
- Etanol

### **Medios de cultivo**

- Caldo Fraser a media concentración y suplementos
- Caldo Fraser a una concentración y suplementos
- Agar ALOA<sup>®</sup>, y suplementos selectivos
- Agar sangre
- Medio SIM
- Medio BHI

### **Pruebas bioquímicas: Carbohidratos**

- Manitol
- Xilosa
- Ramnosa

## **4.2. Metodología**

### **4.2.1. Diseño del estudio**

Estudio descriptivo de corte transversal.

#### **4.2.2. Tamaño de la población**

La investigación se realizó utilizando un tipo de muestreo por conveniencia en 30 supermercados de las cinco cadenas principales, situados en las diferentes zonas de la capital. En cada supermercado se compró una bandeja de lomo relleno de aproximadamente 390 gramos (8 rodajas), la cual se transportó en hielera al laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

#### **4.2.3. Análisis microbiológico**

El método que se utilizó para este estudio fue ISO 11290-2004 Estándar modificado, para pruebas de *Listeria monocytogenes* en alimentos y concentrados. El procedimiento según el método fue el siguiente:

##### **Procedimiento de pre-enriquecimiento**

1. Se taró la balanza e identificó la bolsa estéril Whirl-pak Nasco con el número de la muestra correspondiente.
2. En la campana de flujo laminar, se abrió la bandeja de lomo relleno y utilizando una pinza y una tijera estéril se cortó una porción de cada rodaja de lomo relleno obteniendo una muestra homogénea y se introdujo en una bolsa estéril Whirl-pak Nasco para obtener un peso de 25grs.
3. Con una probeta se midió 225ml de Caldo Fraser a  $\frac{1}{2}$  concentración y se añadió a la bolsa estéril Whirl-pak Nasco hasta cubrir la muestra (la bolsa dentro de un beaker).
4. Durante 3 minutos se homogenizó manualmente la muestra, se le agregó el



resto del Caldo Fraser y se selló la bolsa.

5. Se incubó a 30°C durante 24 horas.

### **Procedimiento de cultivo y aislamiento**

6. A partir del Caldo Fraser a media concentración se tomó una muestra con el asa bacteriológica y se sembró en Agar ALOA® por agotamiento, posteriormente se incubó a una temperatura de 37°C durante 48 horas.
7. Así mismo del caldo Fraser a media concentración se tomó 0.1ml y se sembró en un tubo con 10ml de caldo Fraser a concentración completa, incubándolos a 37°C durante 48 horas.
8. A partir del Caldo Fraser a concentración completa se sembró con asa en Agar ALOA® por agotamiento y se incubó a 37°C durante 24 horas.

### **Procedimiento de indentificación**

9. Las colonias que mostraron un color azul-verdoso pero sin el halo opaco alrededor de la colonia se catalogaron como colonias de *Listeria spp.*
10. Las colonias que mostraron una coloración azul-verdosa con halo opaco/color gris-verdoso son presuntas colonias de *Listeria monocytogenes.*
11. A las colonias sospechosas se les realizaron pruebas de identificación por medio de la siembra en agar sangre para observar la hemólisis, coloración de Gram a partir de la siembra en agar sangre, posteriormente se sembraron las pruebas bioquímicas tales como manitol, ramnosa, xilosa, movilidad y la prueba de catalasa.

#### **4.2.4 Análisis estadístico**

Se realizó estadística descriptiva, basada en describir los resultados de las muestras recolectadas para determinar la presencia de *Listeria monocytogenes* en lomo relleno. Los resultados se expresaron en proporciones, para ser presentados en cuadros y gráficas.

## V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el presente estudio se llevó a cabo la determinación de la presencia de *Listeria monocytogenes* en 30 muestras de lomo relleno expendidos en diferentes supermercados de la ciudad capital, tomando como base para su identificación el método ISO 11290-2004 estándar modificado, para pruebas de *Listeria monocytogenes* en alimentos y concentrados.

**Cuadro No. 2 Resultados obtenidos mediante cultivo y aislamiento**

Cantidad de muestras	Resultado
<b>1</b>	Positiva a <i>Listeria monocytogenes</i>
<b>6</b>	Positivas a <i>Listeria spp.</i>
<b>8</b>	Positivo a Bacterias concomitantes
<b>15</b>	Negativas
30	<b>TOTAL</b>

Fuente: Elaboración propia

De un total de 30 muestras analizadas por medio del aislamiento en Agar Aloa<sup>®</sup> después de 48 horas de incubación mostrando las características específicas de la coloración de la colonia al igual que la formación del halo alrededor de la misma, se obtuvo una muestra con resultado positivo a *Listeria monocytogenes* (3%) (Figura 1). Posteriormente, se efectuó la identificación mediante la coloración de Gram y observación de  $\beta$ -hemólisis en agar sangre, así como pruebas bioquímicas (xilosa, ramnosa, manitol, catalasa y movilidad), confirmando la presencia de *Listeria monocytogenes* (Cuadro No.3)

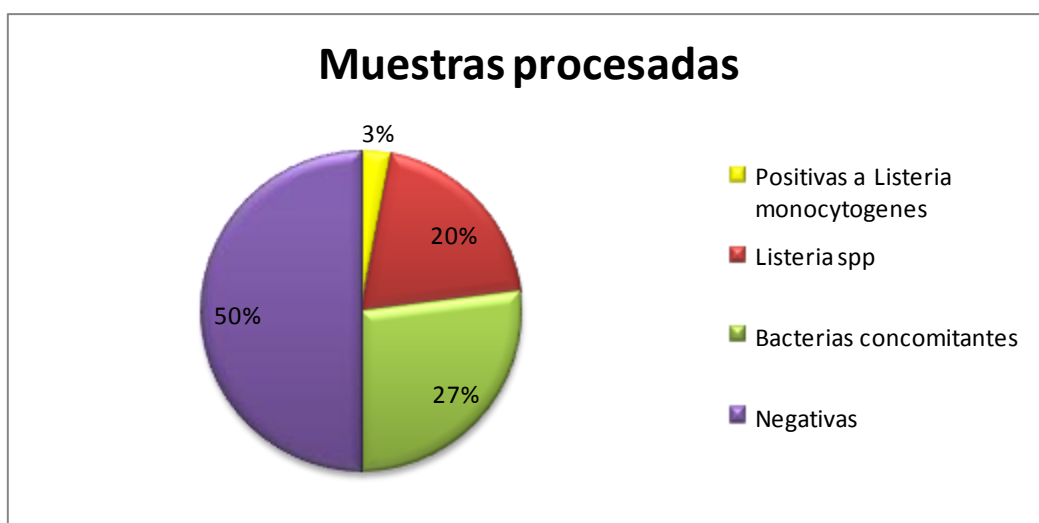
**Cuadro No. 3 Resultados obtenidos en la identificación de *Listeria monocytogenes***

Fermentacion de carbohidratos							Diagnóstico
Gram	$\beta$ -Hemólisis	Catalasa	Movilidad	Ramnosa	Manitol	Xilosa	
+	+	+	+	+	-	-	<i>Listeria monocytogenes</i>

Fuente: Elaboración propia

En la figura No.1 se observan los porcentajes de las muestras procesadas mostrando 6 muestras positivas a *Listeria spp.* (20%), que presentaban la coloración correspondiente al género *Listeria*, sin embargo sin presencia del halo opaco grisáceo alrededor de la misma. Así también se detectaron 8 muestras contaminadas por bacterias concomitantes (27%). Se obtuvieron 15 muestras negativas (50%), es decir que no hubo ningún tipo de crecimiento bacteriano.

**Figura No. 1: Muestras procesadas de lomo relleno**



Fuente: Elaboración propia

**Cuadro No. 4 Características de las muestras de lomo relleno**

No. muestra	supermercado	No. lote	F.de compra	F. de vencimiento	Peso (lb.)	T° en anaquel (°C)
5	A	7401115300413	30-6-14	27-7-14	1.01	4
6		2527621022849	6-7-14	9-7-14	1.05	2
8	B	Sin datos	15-6-14	Sin datos	0.87	Sin datos
9		Sin datos	30-6-14	10-7-14	0.67	0
10		0252408010154	6-7-14	12-7-14	0.70	0
13	C	251082700606	8-6-14	Sin datos	Sin datos	Sin datos
16		7401115300413	6-7-14	23-7-14	1.01	1
17		2587491013248	13-7-14	15-7-14	0.86	4
18		2527763019141	13-7-14	8-8-14	1.01	4
22	D	Sin datos	30-6-14	24-7-14	1.04	10
23		258835602127	6-7-14	7-7-14	1.04	0
24		2512055023050	6-7-14	16-7-14	1.05	Sin datos
26	E	2517348021355	13-7-14	22-7-14	1.07	4
28		0251364006683	13-7-14	23-7-14	0.52	0
29		0251155005291	13-7-14	21-7-14	0.41	0

- muestra positiva a *Listeria monocytogenes*
- muestras con *Listeria spp.*
- muestras contaminadas con bacterias concomitantes

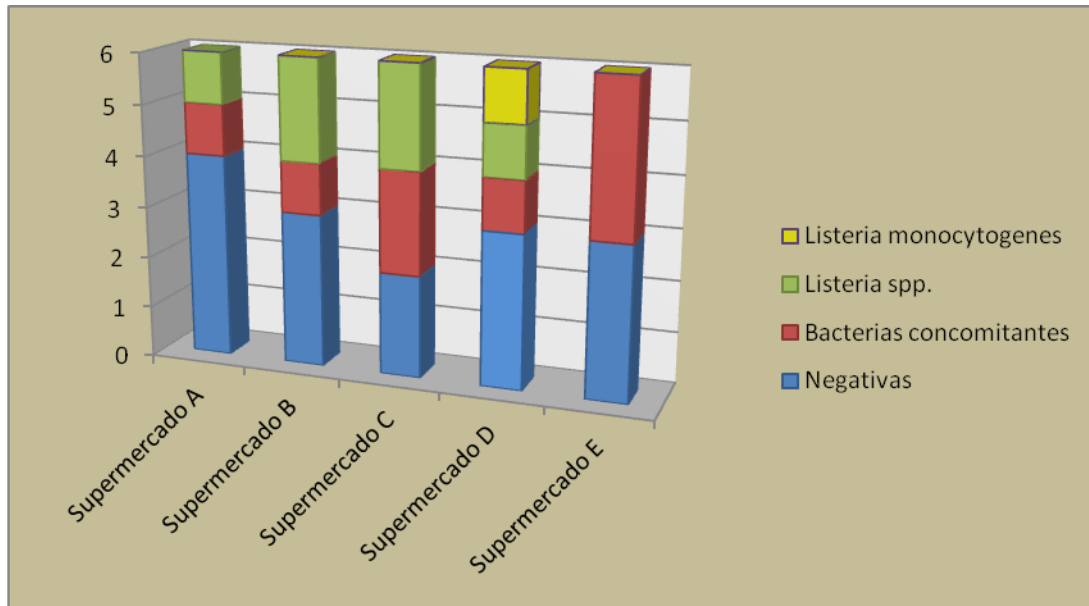
Fuente: Elaboración propia

En el Cuadro 4 se describen las características de las muestras, en relación a los supermercados y la temperatura de anaquel; durante la recolección de las muestras en los supermercados, se pudo observar que la temperatura en los anaqueles variaba entre 0-10°C, siendo la última una temperatura alta para el mantenimiento de los productos, la temperatura se mantiene así durante 30 minutos aproximadamente, luego automáticamente desciende.

En uno de los supermercados visitados se despachó el lomo relleno a granel, es decir que estaba ubicado en un anaquel junto con otros productos cárnicos, sin la utilización de un empaque (bandeja de duroport), a diferencia del resto de mu-

estras que se encontraban empacadas.

**Figura No. 2 Resultados obtenidos según la cadena de supermercados**



Fuente:Elaboración propia

Del total de 6 muestras de cada supermercado se observa que en los supermercados de la cadena A una muestra estaba positiva a *Listeria spp.*, una contaminada y cuatro muestras negativas. En los supermercados de la cadena B se halló 2 positivas a *Listeria spp.*, 1 contaminada y 3 muestras negativas. En la cadena C se observaron 2 positivas a *Listeria spp.*, 2 muestras contaminadas y 2 negativas. Es importante mencionar que en uno de los supermercados de la cadena D, se determinó la presencia de *Listeria monocytogenes*; así también se obtuvo una con *Listeria spp.*, una contaminada y 3 muestras negativas. En los supermercados de la cadena E se obtuvieron 3 muestras contaminadas y 3 negativas.

La muestra de lomo relleno positiva a *Listeria monocytogenes* representa un 3% de las muestras procesadas, la cual demostró tener las características adecuadas para el crecimiento y desarrollo de la bacteria. Se han descrito

anteriormente los factores que influyen en la aparición de *Listeria monocytogenes* en plantas procesadoras de alimentos y en los supermercados distribuidores, y por los resultados obtenidos en esta investigación se demuestra que un fallo en los procedimientos de estas plantas o en los supermercados ocasiona, por mínimo que sea, la presencia de este agente patógeno.

La muestra positiva se encontraba a una temperatura de 10°C en el anaquel del supermercado al momento de la compra, y es de mencionar que es de la misma marca que dos de las muestras que fueron positivas a *Listeria spp.*, asumiendo de esa manera que la contaminación provenía de la planta procesadora de alimentos. La temperatura es factor que contribuye al desarrollo de *Listeria monocytogenes*, (rango 0°C-50°C), cuando hay presencia de microorganismo competitivos y a pH bajos sobrevive sin multiplicarse a 4°C, favoreciendo su crecimiento conforme la temperatura aumenta, presentando una termotolerancia. Además las condiciones de la muestra de lomo relleno positiva, probablemente contenían características intrínsecas apropiadas para que en ella se desarrollara la bacteria, tales como la  $a_w$  y el pH.

Lo expuesto por Mendoza (2009) sobre las tres etapas por las que un alimento puede contener microorganismos se ve reflejado en el 50% de muestras negativas en este estudio, ya que en la primera etapa los microorganismos son erradicados o disminuidos por procesos térmicos.

Las muestras positivas a *Listeria spp.* fueron el 20% del total de muestras analizadas, así también se obtuvo el 27% de muestras contaminadas con bacterias concomitantes. Se pudieron haber contaminado durante el proceso de elaboración del producto en la planta procesadora de alimentos, ya que los microorganismos se pueden adherir al equipo como en las cuchillas, las cintas transportadoras y en el equipo para el empaque.

Según Mendoza (2009) se comprueban los resultados positivos a *Listeria monocytogenes* y de *Listeria spp.*, respecto al almacenamiento a bajas temperaturas que permite el desarrollo de microorganismos psicótrofos como lo es *Listeria monocytogenes*, ya que las 6 muestras positivas a *Listeria spp.* presentaron una similitud en la temperatura de almacén en los anaqueles (0°C y 4°C), además que 2 muestras de la misma marca de lomo relleno expendidos en 2 distintas líneas de supermercado fueron positivas dicha bacteria. Como se mencionó anteriormente, en uno de los supermercados se obtuvo una muestra a granel, esto favorece el desarrollo de *Listeria spp.*, debido a factores como: contacto con otros productos cárnicos (carne de res, tortas de pollo, etc.), deficiente limpieza y desinfección del anaquel, y temperatura adecuada para el crecimiento de la bacteria. Así mismo las líneas de supermercado que presentaron muestras positivas a *Listeria spp.* y muestras contaminadas con bacterias concomitantes, pudieron presentar en los anaqueles y en el equipo de rebanado, deficiencia de sanitización del equipo y falta de higiene de los operarios, así también que la contaminación provenga de la materia prima.



## VI. CONCLUSIONES

- Se determinó la presencia por cultivo y aislamiento del 3% (n=1) de *Listeria monocytogenes* en lomo relleno expandido en un supermercado de la capital de Guatemala.
- Se determinó el 20% (n=6) de *Listeria spp.* en muestras de lomo relleno que provenían de diferentes supermercados de la ciudad capital.
- Se obtuvo el 50% (n=15) de muestras negativas en lomo relleno expandidos en supermercados de la ciudad capital.

## VII. RECOMENDACIONES

- Como medida de control para prevenir el riesgo de contaminación y/o introducción de *Listeria monocytogenes* en las plantas procesadoras de alimentos, las empresas deben realizar capacitaciones periódicas al personal que manipule la materia prima, el equipo y el producto final, que tengan relación con las Buenas Prácticas de Manufactura.
- Las plantas procesadoras de alimentos y las empresas encargadas de la distribución del producto final, entiéndase los supermercados, deben realizar análisis microbiológicos de los ambientes, a modo de encontrar las posibles fuentes o puntos de contaminación de productos cárnicos con *Listeria monocytogenes*.
- Identificar en futuros estudios las especies de *Listeria sp.* en las muestras, para determinar la incidencia que estas tengan en las plantas procesadoras de alimentos y en los distribuidores finales, con el fin de implementar las medidas de control y/o erradicación del agente patógeno.
- Se recomienda continuar con estudios similares en otras regiones de Guatemala, con la finalidad de determinar la presencia de *Listeria monocytogenes* en productos cárnicos.

## VIII. RESUMEN

*Listeria monocytogenes*, es el agente causal de la enfermedad transmitida por alimentos conocida como Listeriosis, produciendo daño en las personas especialmente a recién nacidos, lactantes, a embarazadas y sus fetos, ancianos y personas inmunocomprometidas. Puede abandonar el sistema digestivo y colonizar médula espinal. Es una enfermedad de transmisión alimentaria favoreciendo el desarrollo de la bacteria en condiciones de refrigeración, la cual es un microorganismo psicrótrofo.

Para determinar la presencia de *Listeria monocytogenes* se tomaron 30 muestras de lomo relleno procedentes de diferentes supermercados de la ciudad capital, utilizando como base para su identificación el método ISO 11290-2004 estándar modificado, para pruebas de *Listeria monocytogenes* en alimentos y concentrados.

Los resultados de las muestras analizadas son los siguientes: una muestra (3%) se confirmó positiva a *Listeria monocytogenes*, 6 muestras (20%) se hallaron positivas a *Listeria spp.*, 8 muestras (27%) resultaron contaminadas con bacterias concomitantes, y 15 muestras (50%) se hallaron negativas.

## SUMMARY

*Listeria monocytogenes*, is the causal agent of the disease known as Listeriosis transmitted by food, producing damage in people especially newborns, infants, pregnant women and their fetuses, the elderly and people with compromised immune systems. It may leave colonize the digestive system and spinal cord. It is a foodborne disease by promoting the development of bacteria in refrigerated conditions, which is a microorganism psicrotrofo.

To determine the presence of *Listeria monocytogenes* samples were taken 30 pork filling from different supermarkets in the capital city, using as a basis for its identification method ISOmodified standard 11290-2004, testing of *Listeria monocytogenes* in food and concentrates.

The results of the samples are as follows: A sample (3%) were confirmed positive *Listeria monocytogenes*, 6 samples (20%) were found positive for *Listeria spp*, 8 samples (27%) were contaminated with concomitant bacteria, and. 15 samples (50%) were found negative.

## IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Bernier, I. (2005). *Aplicación de la Norma ISO 11290-2004, usando el Chromoplate Agar Listeria selectiva acorde a OTTAVIANI & AGOSTI*. Recuperado de <http://www.iblaboratorio.com/kbfiles/Evaluacion%20Listeria%20monocytogenes%20Parte%201.pdf>. Consultado 4 de mayo 2013.

Betelgeux. (2013). *Estrategias de control de Listeria monocytogenes persistente*. Recuperado de [http://www.betelgeux.es/images/files/Documentos/Enrique\\_Orihuel\\_-\\_Estrategias\\_de\\_control\\_de\\_Listeria\\_monocitogenes\\_persistente.pdf](http://www.betelgeux.es/images/files/Documentos/Enrique_Orihuel_-_Estrategias_de_control_de_Listeria_monocitogenes_persistente.pdf). Consultado 2 abr. 2014.

Bolifie Italiana Srl. (2005). *ALOA@SUPLEMENTOS-enriquecimiento selectivo: Medio en polvo, suplementos selectivos y de enriquecimiento y listo para usar placas para la detección y la enumeración de L. monocytogenes*. Recuperado de <http://www.biolifeit.com/biolife/upload/file/Documenti/TS-401605-ALOA.pdf>. Consultado 29 jul. 2013.

Blanco, M. (1994). *Recuperación de Listeria monocytogenes dañada subletalmente por efecto de la congelación*. Tesis de licenciatura, Universidad Complutense de Madrid, España.

Domínguez, M. (2010). *Listeriosis: Una zoonosis emergente de transmisión alimentaria*. Recuperado de <http://www.analesranf.com/index.php/mono/article/viewFile/1112/1129>. Consultado 5 nov. 2012.

FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, IT); OMS (Organización Mundial de la Salud, SUI). (2001). *Anteproyecto de Directrices para el control de Listeria monocytogenes en alimentos*. Recuperado

de [ftp://ftp.fao.org/codex/Meetings/CCFH/ccfh34/fh01\\_06s.pdf](ftp://ftp.fao.org/codex/Meetings/CCFH/ccfh34/fh01_06s.pdf) . Consultado 22 jul. 2014.

FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, IT); OMS (Organización Mundial de la Salud, SUI). (2004). *Evaluación de riesgos de Listeria monocytogenes en alimentos listos para el consumo*. Recuperado de [ftp://ftp.fao.org/es/esn/jemra/mra4\\_es.pdf](ftp://ftp.fao.org/es/esn/jemra/mra4_es.pdf). Consultado 19 jul. 2012.

Fundación Vasca para la Seguridad Agroalimentaria (Elika). (2006). *Listeria monocytogenes*. Recuperado de <http://www.elika.net/datos/riesgos/Archivo21/Listeria.pdf>. Consultado 3 abr. 2014.

Gálvez, E. (1997). *Determinación de la contaminación por Listeria monocytogenes en quesos de producción comercial en Guatemala usando el Método USDA*. Tesis de licenciatura, Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.

Gimferrer, N. (2008). *El agua en los alimentos*. Recuperado de <http://www.adiveter.com/ftp/articles/A2280308.pdf>. Consultado 2 abr. 2014.

González, A. (2008). *Determinación de Listeria monocytogenes en leche de vaca no pasteurizada y comercializada en localidades de San José Pinula, Antigua Guatemala y en la Facultad de Medicina Veterinaria y zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala*. Tesis de licenciatura, Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.

Kopper, G. (2009). *Enfermedades transmitidas por alimentos y su impacto socioeconómico: Estudios de caso en Costa Rica, El Salvador, Guatemala, Honduras y Nicaragua*. Recuperado de <http://ftp.fao.org/docrep/fao/011/i0480s/i0480s.pdf>. Consultado 05 de nov. 2012.

Leardini, N. (2007). En N.O. Stanchi (Ed.), *Microbiología Veterinaria* (pp. 258-266). Buenos Aires, Argentina: Inter-Médica.

Manual de Merck de Microbiología. (s.f.) (pp. 294-2). Darmstadt, Alemania. Merck. 12ª. edición.

Manual de la OIE sobre animales terrestres. (2004). *Listeria monocytogenes*. Recuperado de [http://web.oie.int/esp/normes/mmanual/pdf\\_es/2.10.14 Listeria\\_monocytogenes.pdf](http://web.oie.int/esp/normes/mmanual/pdf_es/2.10.14_Listeria_monocytogenes.pdf). Consultado 2 abr. 2014.

Mendoza, V. (2009). *El riesgo de Listeria monocytogenes en productos cárnicos listos para consumir*. Recuperado de [http://www.uach.mx/extension\\_y\\_difusion/synthesis/2009/01/21/el\\_resgo\\_de\\_lysteria.pdf](http://www.uach.mx/extension_y_difusion/synthesis/2009/01/21/el_resgo_de_lysteria.pdf). Consultado 25 de jul. 2014.

Michanie, S. (2004). *Listeria monocytogenes: La bacteria emergente de los 80*. Buenos Aires: Argentina.

Ministerio de Salud del Gobierno de Chile, Departamento de Epidemiología. (2013). *Informe de situación de Listeria monocytogenes*. Recuperado de [http://epi.minsal.cl/epi/html/bolets/reportes/Listeriosis/listeria\\_SE142013.pdf](http://epi.minsal.cl/epi/html/bolets/reportes/Listeriosis/listeria_SE142013.pdf). Consultado 3 abr. 2014.

Muñoz, A., Chaves, J., et.al. (2013). *Listeria monocytogenes en manipuladores de alimentos: un nuevo enfoque para tener en cuenta en los peligros de la industria alimentaria*. *Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal*, 33(2), 283-291.

Pascual, M. (1989). *Microbiología alimentaria: Detección de bacterias con significado higiénico-sanitario*. Madrid, España: AGISA.

Schöbitz, R. (2009). *Listeria monocytogenes un peligro latente para la industria alimentaria*. Recuperado de <http://mingaonline.uach.cl/pdf/agrosur/v37n1/art01.pdf>. Consultado 28 jul. 2012.

Tirado, J; Paredes, D; et.al. (2005). *Crecimiento microbiano en productos cárnicos refrigerados*. *Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal*. 5(1), 66-73. doi: 1135-8122.



# **X. ANEXOS**

### Cuadro No. 2

Resultados obtenidos mediante cultivo y aislamiento

Cantidad de muestras	Resultado

### Cuadro No. 3

Resultados obtenidos en la identificación de *Listeria monocytogenes*

Fermentacion de carbohidratos							
Gram	$\beta$ -Hemólisis	Catalasa	Movilidad	Ramnosa	Manitol	Xilosa	Diagnóstico



**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA  
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**

**DETERMINACIÓN DE *Listeria monocytogenes* EN LOMO  
RELLENO EXPENDIDO EN SUPERMERCADOS DE LA CIUDAD  
CAPITAL DE GUATEMALA**

f. \_\_\_\_\_  
Alba Virginia Colón Samayoa

f. \_\_\_\_\_

Dra. Jacqueline Escobar Muñoz  
ASESOR PRINCIPAL

f. \_\_\_\_\_

M.V. Julia Virginia Bolaños de Corzo  
ASESOR

f. \_\_\_\_\_

M.A. Jaime Rolando Méndez Sosa  
ASESOR

f. \_\_\_\_\_

M.V. Blanca Josefina Zelaya de Romillo  
EVALUADOR

IMPRÍMASE

f. \_\_\_\_\_

MSc. Carlos Enrique Saavedra Vélez  
DECANO

