

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA



**DETERMINACIÓN DE *Listeria monocytogenes* EN PRODUCTOS LÁCTEOS
ARTESANALES (QUESO FRESCO, CREMA Y REQUESON) QUE SE
EXPENDEN EN LA CABECERA DEPARTAMENTAL DE JUTIAPA,
GUATEMALA**

Seminario de Investigación

Presentado por

Andrea Carolina De León De León

Laura María Campos Samayoa

Diego Antonio Díaz Reyes

Para optar al título de

QUÍMICOS BIÓLOGOS

Guatemala, Julio de 2016

JUNTA DIRECTIVA

Dr. Rubén Dariel Velásquez Miranda

Decano

Licda. Elsa Julieta Salazar Meléndez de Ariza, M.A.

Secretaria

MSc. Miriam Carolina Guzmán Quilo

Vocal I

Dr. Juan Francisco Pérez Sabino

Vocal II

Lic. Carlos Manuel Maldonado Aguilera

Vocal III

Br. Andreina Delia Irene López Hernández

Vocal IV

Br. Carol Andrea Betancourt Herrera

Vocal V

AGRADECIMIENTOS

A DIOS

Por ser nuestro guía, darnos fortaleza en todo momento y permitirnos alcanzar una meta más en nuestras vidas.

A NUESTROS PADRES

Miriam Carolina De León Maldonado de De León, Carlos Giovanni De León Velásquez, Virginia María Samayoa Hilton de Campos, Otoniel Campos Torres, Luz Marina Reyes Cerón de Díaz, Salvador Antonio Díaz. Por su gran amor, por ser unos padres maravillosos que con esfuerzo y dedicación ha estado en cada etapa de nuestras vidas, brindándonos consejos, ejemplo de perseverancia y enseñándonos los valores que nos han llevado hoy a alcanzar esta meta. ¡Nuestros triunfos son suyos!

A NUESTROS HERMANAS Y HERMANOS

Por su compañía, apoyo, paciencia y cariño, ya que siempre han estado presentes para darnos esa energía necesaria para seguir adelante.

A LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA, en especial a la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia

Por brindarnos los conocimientos y enseñanzas necesarias para nuestra formación académica y con esto ser mejores profesionales.

A NUESTRO ASESOR, Lic Martín Gil

Por el tiempo, dedicación y paciencia en la elaboración de esta investigación.

A TODAS LAS PERSONAS E INSTITUCIONES COLABORADORAS

Por brindarnos su apoyo y ayuda incondicional en todo momento.

ÍNDICE

I. RESUMEN.....	4
II. ÁMBITO DE LA INVESTIGACIÓN.....	6
III. INTRODUCCIÓN.....	7
IV. ANTECEDENTES.....	9
A. Productos lácteos.....	9
1. Generalidades.....	9
2. Proceso de los productos lácteos artesanales.....	10
3. Tratamiento de los productos lácteos artesanales.....	11
4. Microbiota normal de los productos lácteos artesanales.....	11
5. Fuentes de contaminación de los productos lácteos artesanales.....	12
6. Control de contaminación de los productos lácteos artesanales.....	12
7. Enfermedades transmitidas por los productos lácteos artesanales.....	13
8. El sector lácteo en Guatemala.....	15
B. Género <i>Listeria</i> , especie <i>Listeria monocytogenes</i>	16
1. Características morfológicas, bioquímicas y serológicas.....	16
2. Hábitat y condiciones ambientales de crecimiento.....	17
3. Determinantes de patogenicidad.....	17
4. Manifestaciones clínicas.....	18
5. Asociación de <i>Listeria</i> con productos lácteos.....	18
6. Métodos de análisis de <i>L. monocytogenes</i>	19
7. Epidemiología.....	20
8. Prevención clínica.....	21
V. JUSTIFICACIÓN.....	23

VI. OBJETIVOS.....	24
A. Objetivo General.....	24
B. Objetivos Específicos.....	24
VII. HIPÓTESIS.....	25
VIII. MATERIALES Y MÉTODOS.....	26
A. Universo y muestra	26
B. Recursos	26
C. Material y equipo	26
D. Metodología	29
IX. RESULTADOS	34
X. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	37
XI. CONCLUSIONES	41
XII. RECOMENDACIONES.....	42
XIII. REFERENCIAS	43
XIV. ANEXOS.....	46

I. RESUMEN

La FDA ha reconocido a *Listeria monocytogenes* como un patógeno emergente importante. La listeriosis es transmitida por alimentos tales como los lácteos, generalmente deja secuelas en las personas que la sobreviven (FDA, Bad Bug Book, 2012).

En Guatemala, Dubón en el año 2014 reporta una prevalencia de *L. monocytogenes* del 31% en quesos artesanales, que se expenden en mercados municipales de la ciudad de Guatemala.

El presente estudio se realizó con el objetivo de determinar la presencia de *Listeria monocytogenes* en 225 muestras de productos lácteos artesanales (queso fresco, crema y requesón), comercializados en los 5 expendios más importantes de la cabecera departamental de Jutiapa, Guatemala, durante los meses de septiembre a noviembre de 2014. Para la determinación de *L. monocytogenes*, se utilizó el método aprobado por la FDA, descrito en el Manual de Análisis Bacteriológico – BAM – por sus siglas en inglés (Hitchins y Jinneman, 2011).

Durante la determinación de *L. monocytogenes*, se estableció la frecuencia de crecimiento característico del género *Listeria* spp., en 50 muestras, lo cual representa un 22.2% del total. Se realizó la identificación de las colonias, por prueba API, que dio como resultado un 64.0% para *L. welshimeri*, del cual el 30.6% se aisló de queso y un 12.0% se aisló de requesón. El 36.0% para *L. ivanovii*, donde el 13.3% fue aislado de queso y un 10.6% de requesón. No se aisló *L. monocytogenes*, en ninguna de las muestras de lácteos evaluadas. Al realizar el análisis de resultados por expendio, se determinó que el expendio A presentó 17.7% de *L. welshimeri*. Los expendios B y E se presentaron un mayor porcentaje (11.1%) fue para *L. ivanovii*.

Se establece la ausencia de *L. monocytogenes* en productos lácteos artesanales (queso fresco, crema y requesón) que se expenden en la cabecera departamental de Jutiapa,

Guatemala. Sin embargo, la evaluación microbiológica de los productos lácteos artesanales analizados, permitió establecer que estos alimentos representan un riesgo potencial para la población consumidora, en cuanto a la transmisión de *Listeria* spp. Por lo que se considera necesario, realizar pruebas de rutina para la determinación de *L. monocytogenes* en productos lácteos artesanales, que se comercializan en los principales expendios de la cabecera departamental de Jutiapa, Guatemala.

II. ÁMBITO DE LA INVESTIGACIÓN

El presente trabajo de investigación, pretende analizar la presencia de *Listeria monocytogenes* en productos lácteos artesanales (queso fresco, crema y requesón) que se expenden en la cabecera departamental de Jutiapa, Guatemala. Para determinar el estado de inocuidad de dichos productos y evaluar el procesamiento y manufactura en aquellos que presenten la bacteria. Con ello establecer los puntos críticos de contaminación en dichos alimentos, con el propósito de educar y concientizar a los productores para prevenir futuras enfermedades transmitidas por alimentos y evitar una posible epidemia.

Debido a que esta investigación no pertenece a un proyecto macro, se pretende, dar una pauta para el inicio un proyecto. Exhortar a futuros investigadores, a que retomen el tema. A nivel nacional, en el que se evalúen los diversos productores del sector lácteo. Para enriquecer la información que existe sobre el tema en el país. Ya que durante la investigación, se descubrió la falta de información, estadística, epidemiológica con respecto a los productos lácteos contaminados por la bacteria *Listeria monocytogenes*.

En el 2008 se realizó una investigación para determinar *L. monocytogenes*, la cual abarcó las localidades de San José Pinula, Antigua Guatemala y la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala (González A. , 2008). En el año 2014, se llevó a cabo una investigación, en la cual se determinó la presencia de *L. monocytogenes* en quesos frescos artesanales que se expenden en mercados municipales de la Ciudad de Guatemala. Donde se evidenciaron un 31% de muestras contaminadas por dicha bacteria (Dubón Pérez, 2014).

La población diana para este estudio, es el sector lácteo artesanal de Guatemala. Debido a que existen diversos distribuidores en varios departamentos del país; se seleccionó como población experimental, los distribuidores de la cabecera departamental de Jutiapa. Sobre todo los que expenden productos artesanales, ya que dichos productos son los más propensos a estar contaminados.

III. INTRODUCCIÓN

Listeria monocytogenes es un bacilo corto, intracelular, que se encuentra ampliamente distribuido en la naturaleza. Este microorganismo es causante de la listeriosis. Siendo los grupos con más alto riesgo las personas con sistema inmunitario deficiente (mujeres embarazadas, recién nacidos, ancianos, pacientes con VIH, etc.).

Esta bacteria resiste diversas condiciones ambientales, como pH bajo, altas concentraciones de sal, sobre todo, tiene la capacidad de sobrevivir a temperaturas de refrigeración (2-4 °C) y a tratamientos insatisfactorios de pasteurización, por esta razón se considera una seria amenaza a la seguridad de la industria alimentaria.

El queso elaborado artesanalmente es uno de los productos lácteos que ofrece condiciones favorables para el crecimiento de *Listeria*, porque es elaborado a partir de leche cruda sin pasteurización, inadecuadas prácticas de manufactura, que sumados a la alta humedad y al hecho de no estar sujetos a controles de almacenamiento, distribución y expendio, se convierten en un vehículo potencial de transmisión para *L. monocytogenes* y otros microorganismos patógenos.

En el 2008 se realizó una investigación en leche cruda de vaca, la cual abarcó las localidades de San José Pinula, Antigua Guatemala y la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala (González A. , 2008). En dicho estudio se aisló *Listeria* spp. en el 12% de las muestras. Otra investigación determinó la presencia de *L. monocytogenes* en un 31% de quesos frescos artesanales que se expenden en mercados municipales de la Ciudad de Guatemala (Dubón Pérez, 2014).

Se considera que la presencia de esta bacteria en los productos lácteos podría, en algún momento, representar un riesgo potencial para la salud. Esta investigación tuvo como objetivo determinar la presencia de *L. monocytogenes* en productos lácteos artesanales (queso fresco, crema y requesón) que se expenden en la cabecera departamental de Jutiapa, Guatemala.

Para ello se analizaron 225 muestras (75 muestras de cada producto), para lo que se utilizó la metodología propuesta por la Food and Drug Administration (FDA), con el propósito de

establecer si estos productos son una posible fuente del microorganismo y que su consumo pueda poner en riesgo la salud de la población susceptible.

IV. ANTECEDENTES

A. Productos lácteos

1. Generalidades

La leche es una emulsión de grasa, proteínas, hidratos de carbono y sales minerales en agua, que produce una sensación suave en la boca, con un especial sabor entre dulce y salado.

A lo largo de los tiempos, el hombre aprendió a transformar la leche, tanto para conservarla durante más tiempo como para variar sus formas de consumo. Así, fueron apareciendo los distintos productos lácteos: queso, crema, requesón, entre otros, que hoy en día componen uno de los más importantes grupos de alimentos consumidos en la dieta diaria del ser humano (Aranceta & Serra, 2005).

El queso es un alimento concentrado que contiene prácticamente todos los nutrientes esenciales presentes en la leche cruda. El queso se obtiene a partir de la coagulación de la leche y deshidratación de la cuajada (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), 2011).

Se denomina crema a la leche que contiene una cantidad de grasa mayor que la leche entera. También contiene la fase acuosa de la leche y, con ella, sus nutrientes hidrosolubles en iguales proporciones. Para lograrla, el proceso supone la separación de dos elementos claves de la leche: el suero y la grasa (Vásquez, De Cos, & López-Nomdedeu, 2005).

El requesón es un derivado lácteo, de sabor suave y delicado. En concreto, se obtiene mediante la fermentación del suero sobrante de la elaboración de los quesos. Este suero se fermenta gracias a la acción de los lactobacilos (Panisello Royo, 2007).

2. Proceso de los productos lácteos artesanales

Cada producto se prepara de forma individual a partir de una receta que describe paso a paso el proceso de elaboración y, de este modo, permite lograr una textura y sabor definidos.

Para la producción de queso fresco de manera artesanal se lleva a cabo una serie de pasos, iniciando con el calentamiento de la leche a fuego lento hasta que alcance una temperatura de 55°C, para luego dejar enfriar hasta llegar a los 35°C. Luego se agrega el cuajo (0.04g) el cual contiene principalmente la enzima llamada rennina cuya función es separar la caseína de su fase líquida, cuajo. El cuajo es disuelto en una cuchara sopera de agua, se añade también 1 cucharada de CaCl y una cucharada de ácido cítrico (jugo de limón). Posterior a eso se deja reposar por una hora a temperatura de 25°C. El siguiente paso corresponde a cortar el cuajo en pequeños cubos y se extrae el suero inclinando el recipiente (se utiliza colador) y desechándolo. El cuajo se coloca en una bolsa de tela o trozo de manta fina, para exprimir el suero. Finalmente se procede a amasar el producto en una tabla o mesa limpia, agregando sal, finalmente se coloca en el recipiente definitivo (Hernández, Alfaro, & Arrieta, 2000).

Para la obtención de crema se debe llevar a cabo el proceso de descremado. En el cual se remueve parcialmente la grasa de la leche utilizando una descremadora eléctrica pequeña, que gira a gran velocidad. Al pasar la leche por el interior hace que la crema salga por un disco superior, recibiendo en una olla de aluminio o de acero inoxidable; el resto de la materia prima sale por un disco inferior. La crema recién obtenida es más fluida, de manera que al descender su temperatura (hasta 2°C aproximadamente) se va solidificando. La manera correcta de conservarla es en refrigeración por un tiempo hasta de 15 días, dependiendo del cuidado en el manejo que se tenga con ella (Valencia, 2001).

Para realizar el requesón se debe recolectar el suero obtenido de la elaboración de queso fresco y se lleva a 90°C y luego se baja la temperatura agregando leche, suero frío o

agua potable. Después se añade vinagre o ácido acético (7.50 mL por 10 L de suero). Cuando el requesón se encuentra en la superficie se debe calentar por un minuto y dejar reposar. En este punto, el suero debe tener un color verde transparente. Se retira la olla del fuego y se deja enfriar completamente. Posteriormente se recoge el requesón, con un colador fino o manta, y se deja desuerar hasta obtener la consistencia adecuada. Se agrega sal al gusto o bien azúcar o miel al gusto. Finalmente se coloca en un recipiente para su refrigeración a 4°C (Pardo & Almanza, 2005).

3. Tratamiento de los productos lácteos artesanales

Los productos lácteos artesanales tales como el queso, crema y requesón carecen de tratamientos térmicos o de esterilización. Debido a que su procesamiento requiere que la materia prima, la leche, se encuentre con sus propiedades naturales para no variar las características organolépticas de los lácteos. En algunos casos únicamente se eleva la temperatura de la leche a 70-75°C durante 15 segundos e inmediatamente se coloca en hielo para provocar un shock térmico.

Por esta razón, es importante realizar buenas prácticas de manufactura e higiene, durante la elaboración de éstos productos para garantizar la mejor calidad del producto al consumidor.

4. Microbiota normal de los productos lácteos artesanales

Las bacterias no patógenas más abundantes que forman parte de la microbiota normal de la leche cruda, son las bacterias ácido lácticas que pertenecen a la familia *Lactobacillaceae* – *Streptococcaceae*. Algunos miembros de la familia *Streptococcaceae* producen enfermedades en humanos (por ejemplo, *Streptococcus pneumoniae* y *Streptococcus pyogenes*). Los restantes miembros de la familia son de gran importancia en la microbiología aplicada y en especial en la microbiología de los productos lácteos. Los principales organismos en este grupo que se encuentran formando parte de la microbiota característica de la leche son *Streptococcus lactis*, *S. cremoris* y varias

especies del género *Lactobacillus* como es el caso de *Lactobacillus casei*, *L. acidophilus*, *L. plantarum* y *L. brevis*.

Estas bacterias no producen enfermedad en los humanos, pero deterioran el producto, fermentando los carbohidratos de la leche, disminuyendo su pH, dando como consecuencia la precipitación de la caseína, lo que le confiere un sabor agrio a la leche. Otras bacterias que por lo general se encuentran en la leche cruda no pasteurizada, son los miembros de los géneros: *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus* y *Bacillus* (Hernández, Alfaro, & Arrieta, 2000).

5. Fuentes de contaminación de los productos lácteos artesanales

Debido a su compleja composición bioquímica y por su alto contenido de agua, la leche es un buen sustrato para los microorganismos saprófitos y para los patógenos.

El recuento total de bacterias presentes en el producto final, refleja las condiciones sanitarias bajo las cuales la leche ha sido procesada; y permite determinar el periodo de preservación de ésta o de sus derivados. Las principales fuentes de contaminación en la leche cruda por presencia de microorganismos están constituidas por superficies tales como las ubres del animal y los utensilios.

La contaminación de la leche puede ocurrir una vez que esta ha sido extraída de la glándula mamaria del animal. Los utensilios, tanques de almacenamiento, transporte e incluso el personal que manipula la leche, son fuentes de contaminación; debido a la falta de BPM, acarreado consigo microorganismos, siendo en algunos casos más abundantes, por lo que son los causantes de grandes pérdidas en cuanto a la calidad del producto (González A. , 2008).

6. Control de contaminación de los productos lácteos artesanales

La leche es un producto muy sensible a la degradación, producida por agentes microbiológicos, que afectan su calidad y aprovechamiento nutricional. Así mismo, las enfermedades que afectan al ganado, pueden influir directamente en su calidad e inocuidad, lo cual representa un peligro potencial para la salud pública, sino se aplican

prácticas de higiene durante las diferentes etapas: ordeño, transporte y procesamiento (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), 2011).

La higiene personal y las normas de manipulación sanitaria, así como la limpieza y desinfección del área de trabajo, son factores clave para la obtención de productos lácteos de calidad. Estas acciones previenen que se contamine el producto, al reducir o eliminar los riesgos. De esa manera se garantiza que los productos sean seguros y no representen una amenaza para la salud de las personas que los consumen.

Las BPM son una herramienta básica para obtener productos seguros para el consumo humano, ya que se basan en la higiene y la forma de manipulación de los alimentos por parte de las personas; son útiles para el desarrollo de procesos de elaboración de productos lácteos.

Debido a la importancia económica que representa la elaboración de productos lácteos artesanales, en los pequeños productores, es necesario que se cuente con manuales técnicos de fácil manejo sobre “Buenas prácticas de ordeño”, “Buenas prácticas de manufactura en la elaboración de productos lácteos” y “Procesos para la elaboración de productos lácteos”.

Estos documentos fueron creados por la FAO, como contribución técnica del proyecto GCP/GUA/012/SPA, fase II en Guatemala. Y son la base para la aplicación de un sistema que garantice la calidad e inocuidad de los productos lácteos artesanales, desde la producción primaria hasta su consumo final (FAO, 2011).

7. Enfermedades transmitidas por los productos lácteos artesanales

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2001), las enfermedades transmitidas por alimentos (para esta investigación productos lácteos), se definen como *“El conjunto de síntomas originados por la ingestión de agua y/o alimentos que contengan agentes*

biológicos (bacterias o parásitos) o no biológicos (plaguicidas o metales pesados) en cantidades tales que afectan la salud del consumidor en forma aguda o crónica, a nivel individual o de grupo de personas”.

Las enfermedades que se transmiten al ser humano a través del consumo de leche no pasteurizada son numerosas y pueden ser de origen bacteriano, virales y las provocadas por rickettsias. Existen dos categorías para agrupar a las enfermedades transmitidas por los productos lácteos:

- a. Las infecciones, que son el resultado de ingerir alimentos que contienen microorganismos patógenos que luego se multiplican en el organismo. Las hay de dos tipos:
 - i. Infecciones donde los microorganismos atacan directamente el intestino u otros órganos, causando síntomas tales como náuseas, vómitos, diarrea y fiebre. En este caso, hay un lapso de algunos días entre la ingesta y la aparición de los síntomas, debido al tiempo de incubación de los microorganismos. Ejemplos de este tipo de infecciones son las causadas por las bacterias *Salmonella*, *Campylobacter* y *Listeria monocytogenes*.
 - ii. Infecciones donde los síntomas, como la diarrea, son causados por toxinas producidas por los microorganismos a medida que se multiplican en el intestino. Aquí, el tiempo de aparición de los síntomas puede variar desde algunas horas hasta días luego de haber ingerido el producto lácteo, como crema o queso. Un ejemplo es la enfermedad causada por las cepas patógenas de *Escherichia coli*.
- b. Las intoxicaciones, que resultan de ingerir alimentos que contienen toxinas producidas por microorganismos, pero que no necesitan multiplicarse en el organismo para causar la enfermedad. Los síntomas aparecen a las pocas horas de haber ingerido un producto lácteo. Un ejemplo intoxicación por leche contaminada con *Bacillus cereus* (Food and Drug Administration - FDA-, 2012).

8. El sector lácteo en Guatemala

En un estudio realizado por el INCAP, se estableció que el 65% de la producción total anual de leche, una parte fue comercializada en forma de leche fluida cruda y la otra fue procesada por pequeñas empresas artesanales. Sin embargo, existe muy poca información sobre este sector en el país.

A raíz de esta falta de información, la Asociación Red de Desarrollo Agroindustrial Rural -REDAR- Guatemala, emprendió la realización de un diagnóstico del sector de productos lácteos de pequeña escala en las áreas rurales de Guatemala. Esta investigación se hizo de forma coordinada con la Dirección General de Servicios Pecuarios (DIGESEPE), dependencia del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación (MAGA), en particular para la realización de la encuesta nacional del sector.

Según la encuesta realizada por REDAR con el apoyo de DIGESEPE, para la mayoría (casi 70%) de productores, la tecnología utilizada para el control de calidad es muy empírica: no aplican ningún proceso de pasteurización y su control de calidad se basa en las características sensoriales (sabor, olor y color) de la leche. Además, las posibilidades de expansión de los pequeños productores artesanales de queso (definidos por una producción menor de 300 litros diarios de leche) son limitada por la falta de acceso a mejoras tecnológicas y, en menor grado, por la falta de financiamiento.

Durante el estudio realizado por el INCAP, se determinó que los productores artesanales de queso del interior del país, que en su mayoría pertenecen al sector informal de la economía, procesan en conjunto un total de 20,155 litros de leche por día, obteniendo una producción de 2,015 kilogramos de queso fresco y 1,521 litros de crema.

Dichos productores emplean un promedio de 4 personas cada uno que no han recibido capacitación formal alguna; comercializan el producto principalmente en la ciudad de Guatemala (50 % de la producción) donde obtienen el mejor precio (9.73 Q/lb de

queso). El menor precio es recibido en mercados no capitalinos y cuando la venta se realiza a intermediarios (Q5.68 por lb). Solamente el 11.5% de los productores obtiene la leche de la crianza de su propio ganado (De León, Tartanac, & Sanchez, s.f.).

B. Género *Listeria*, especie *Listeria monocytogenes*

1. Características morfológicas, bioquímicas y serológicas

Listeria monocytogenes es una bacteria en forma de bastón, bacilo. Es una bacteria facultativa Gram positivo, no formadores de esporas que pueden causar una amplia variedad de enfermedades transmitidas por alimentos (Food and Drug Administration - FDA-, 2012).

Pueden medir de 0.4 a 0.5 x 0.2 a 2 μm , son no ramificados y anaerobios facultativos. Cuando crecen a temperaturas ambiente entre 20 - 25°C, presentan de uno a cinco flagelos peritricos, que les confieren una movilidad característica en forma de sombrilla en medio SIM, los cuales pierden movilidad a 37°C (Madigan, Martinko, y Parker, 2004).

De las otras cinco especies del género *Listeria*—*L. seeligeri*, *L. welshimeri*, *L. innocua*, *L. grayi*, *L. denitrificans*; solo *L. ivanovii* se considera patógena, y principalmente en rumiantes, en lugar de en los seres humanos (FDA, 2012).

Bioquímicamente, todas la especies del género *Listeria* son catalasa positivo, oxidasa negativo, Voges-Proskauer y rojo de metilo positivo, hidrolizan la esculina y el hipurato pero no la urea ni la gelatina, no producen indol ni ácido sulfhídrico y producen ácido a partir de (fermentan) glucosa y otros azúcares como ramnosa, salicina y trealosa. No fermenta la arabinosa, galactosa, xilosa, manitol, dulcitol, insulina ni inositol. La fermentación de la maltosa y de la lactosa es variable y lenta. (Anexos 1 y 2). En cultivo esta bacteria desprende olor ácido penetrante y desagradable (Murray, Rosenthal, y Pfäuer, 2007).

2. Hábitat y condiciones ambientales de crecimiento

L. monocytogenes es resistente por diversos factores; es tolerante a la sal y no sólo puede sobrevivir en temperaturas por debajo de 1° C, sino también crecer en estas condiciones; a diferencia de muchos otros agentes patógenos. También es notable por su persistencia en entornos de fabricación de alimentos. La bacteria es ubicua en el medio ambiente y se puede encontrar en ambientes húmedos, el suelo y la vegetación en descomposición. Fuentes de contaminación potenciales incluyen trabajadores de la alimentación, el aire entrante, materias primas, y los entornos de procesamiento de alimentos. Entre ellos, la contaminación post-procesamiento, en superficies en contacto con alimentos representa la mayor amenaza a la contaminación del producto (FDA, 2012).

3. Determinantes de patogenicidad

La patogenicidad de *L. monocytogenes* es única, ya que es un patógeno facultativo intracelular. Una vez que la bacteria entra en los monocitos, macrófagos o leucocitos polimorfonucleares del huésped, se puede reproducir, y es transmitida por la sangre. Las proteínas de superficie de *L. monocytogenes* le permiten sobrevivir en células fagocíticas y mejorar su propagación de célula a célula (FDA, Bad Bug Book, 2012).

La entrada en los macrófagos después haber atravesado las células que recubren el intestino conduce a las bacterias hasta el hígado y el bazo, lo que produce la diseminación de la enfermedad (Koneman, Allen, Janda, Schreckenberger, & Winn, 2004).

La inmunidad humoral es relativamente poco importante en el desarrollo de las infecciones por *L. monocytogenes*. Estas bacterias se pueden replicar en los macrófagos y moverse en el interior de las células, evitando así la eliminación mediada por anticuerpos. Por este motivo, los pacientes con deficiencias de la inmunidad celular, pero no de la humoral, son especialmente susceptibles a las infecciones graves (Murray et al., 2007).

4. Manifestaciones clínicas

L. monocytogenes causa dos formas de la enfermedad en los seres humanos:

1. Enfermedad gastrointestinal no invasiva, que generalmente se resuelve en personas por lo demás sanas.
2. La forma mucho más grave, la enfermedad invasiva, puede causar septicemia y meningitis.

Las manifestaciones de la infección por *L. monocytogenes* tienden a ser anfitrión-dependiente. En las personas con el sistema inmune intacto, puede causar gastroenteritis febril aguda, la forma menos severa de la enfermedad. En las poblaciones vulnerables, sin embargo, la forma más severa de la enfermedad puede resultar en la sepsis y se extendió al sistema nervioso, causando potencialmente meningitis. En las personas de edad avanzada e inmunodeprimidos que desarrollan la forma severa.

Las mujeres embarazadas, que están desproporcionadamente infectadas con *L. monocytogenes*, pueden experimentar síntomas leves similares a la gripe. Puede provocar abortos o muerte fetal, y los nacidos vivos pueden tener bacteriemia y meningitis (FDA, Bad Bug Book, 2012).

5. Asociación de *Listeria* con productos lácteos

Muchos alimentos se han asociado con *L. monocytogenes*. Los más comunes incluyen la leche cruda, leche pasteurizada inadecuadamente, leche con chocolate, quesos (en especial quesos blandos), helados, verduras crudas, carnes crudas (todos los tipos), pescado crudo y otros mariscos. *L. monocytogenes* es una de las patógenas más importantes de origen alimentario, dado que resiste diversas condiciones ambientales, como pH bajo, altas concentraciones de sal y, sobre todo, tiene la capacidad de sobrevivir a temperaturas de refrigeración (2 – 4°C) y tratamientos insatisfactorios de pasteurización, logrando que se constituya en una seria amenaza a la seguridad de la industria alimentaria (FDA, Bad Bug Book, 2012).

Debido a que los productos artesanales, como el queso y crema, no son sometidos a un proceso de pasteurización; estos productos presentan condiciones adecuadas, para el

crecimiento de microorganismos, en cuanto a concentraciones de sal y pH, y son almacenados en refrigeración; por lo que son más propensos a contaminación.

Según estudios realizados anteriormente, las fuentes más importantes de contaminación de los productos lácteos, por *L. monocytogenes*, la constituyen los enfermos y portadores sanos que van diseminándola en el ambiente a través de la orina, las heces y otras secreciones, así como también, el medio ambiente y los alimentos que se le proporcionan al ganado (heno, concentrado y ensilaje). Cabe mencionar que el microorganismo es excretado en la leche de los animales afectados hasta tres meses después de la desaparición de los síntomas clínicos, lo que hace que esta leche sea un peligro potencial para el consumidor si no se le aplica el tratamiento térmico adecuado. (Schöbitz, Marín, Horzella, & Carrasco, 2001).

6. Métodos de análisis de *L. monocytogenes*

Las metodologías de análisis de alimentos para los propósitos de la identificación de *L. monocytogenes* son complejas y requiere mucho tiempo. El método de la FDA, revisada en enero de 2003, utiliza un solo caldo de enriquecimiento, tamponada caldo de enriquecimiento de *Listeria*, y requiere de 24 a 48 horas de enriquecimiento, seguido por una serie de agares y, por último, la confirmación bioquímica. Tiempo total a la identificación es de 5 a 7 días. Muchos otros caldos de enriquecimiento, tales como UVM caldo y el caldo Fraser, también se incluyen en varios protocolos. Agares que han sido evaluados ampliamente incluyen agar Oxford, PALCAM, LPM más esculina y hierro férrico y MOX (Anexos 1 – 3) (FAD, Bad Bug Book, 2012).

Se han utilizado nuevas técnicas de biología molecular para desarrollar diversos kits de detección rápida para *L. monocytogenes*. Estos kits se basan generalmente en ELISA, PCR, y la identificación basada en sondeos (FDA, Bad Bug Book, 2012).

El API (Analytical Profile Index) o Índice Analítico de Perfil, es un método rápido que permite la identificación de microorganismos, a través de la realización de diferentes

pruebas bioquímicas; específicas para el microorganismo que se desea identificar (Anexos 4 – 6) (Ministerio de Salud Pública, Gobierno de Chile, 2009).

7. Epidemiología

La *L. monocytogenes* es de incidencia esporádica y su distribución es mundial. Se ha recuperado tras epidemias, principalmente transmitidas por productos de origen lácteo. Y ha sido considerada como uno de los siete patógenos principales que se encuentran involucrados en las enfermedades transmitidas por alimentos -ETA´s- (Michanie, 2004).

Gran parte de las infecciones producidas por *Listeria monocytogenes* tienen como consecuencia la muerte, siendo significativamente mayor que la tasa de mortalidad de otras enfermedades transmitidas por alimentos. Sin embargo, la mortalidad varía en forma considerable con los diferentes síndromes clínicos. Teniendo mayor riesgo de padecer esta enfermedad, los jóvenes, ancianos y mujeres gestantes, así como los pacientes con defectos de la inmunidad celular (Koneman et al., 2004).

La mayoría de las personas sanas probablemente no muestran ningún síntoma. Las complicaciones son las expresiones clínicas habituales de la enfermedad. Cuando se produce la meningitis, la mortalidad global puede llegar hasta un 70%; cuando es septicemia es el 50%, al ser infecciones perinatales o neonatales es mayor que 80%. En las infecciones durante el embarazo, la madre generalmente sobrevive (Espinoza, De La Torre, Salinas y Sánchez, 2004).

Debido a que estos microorganismos son ubicuos, es probable que la exposición y la colonización transitoria ocurran en la mayoría de individuos. No obstante, muchas infecciones de carácter leve no se registran. Sin embargo, se han documentado algunos brotes extensos asociados al consumo de productos de origen lácteo contaminados (Murray et al., 2007).

La tasa de mortalidad de las infecciones sintomáticas por *Listeria* (20-30%) es más alta que la de casi todas las restantes toxoinfecciones alimentarias (Murray et al., 2007).

En 1997, se llevaron a cabo dos investigaciones en la ciudad de Guatemala. En una se determinó la presencia de *L. monocytogenes* en el 3 % de 100 muestras de camarón de exportación y consumo local procesadas (Gálvez & Mauricio, 1997). Mientras que en otra investigación se determinó una prevalencia del 5.49% en 91 muestras de quesos (subtipos cacciocavallo, fresco, ricota y de capas) de producción comercial (Chenal Pérez, 1997).

En la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia En el año 2008, se llevó a cabo un estudio de determinación de *L. monocytogenes* en leche de vaca no pasteurizada. Este evidenció un 12% de muestras positivas para *Listeria* spp., de las muestras positivas, se identificaron dos especies, *L. innocua* y *L. welshimeri* (González A., 2008).

En el año 2014 se realizó un estudio, en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, en el cual se determinó la presencia de *L. monocytogenes* en quesos frescos artesanales. De 42 muestras analizadas, el 31% fueron positivas para *L. monocytogenes* (Dubón Pérez, 2014).

8. Prevención clínica

Según la CDC, las directrices generales para la prevención de la listeriosis, son similares a aquellas para la prevención de otras enfermedades transmitidas por otros alimentos, por ejemplo la salmonelosis. Además, existen recomendaciones específicas para las personas con alto riesgo de contraer listeriosis.

En la mayoría de los casos, la prevención depende de la seguridad alimentaria. Las personas con alto riesgo de contraer listeriosis deben cocinar cuidadosamente los alimentos provenientes de fuentes animales, lavar bien las verduras crudas, y evitar el consumo de productos lácteos sin pasteurizar. Después del contacto con los alimentos crudos, se deben lavar todos los utensilios de cocina y las manos. Se debe mantener la

carne cruda separada de las verduras, los alimentos cocinados y los alimentos listos para comer.

Se han publicado guías para prevenir la contaminación por *Listeria* en las plantas procesadoras de leche y otros establecimientos. Estas guías se basan en la pasteurización y en la prevención de la contaminación cruzada entre los productos procesados que abandonan la planta y las materias primas que ingresan a la misma (Abehsera, Eguiluz, Barber , & Baena, 2007).

V. JUSTIFICACIÓN

La FDA ha reconocido a *Listeria monocytogenes* como un patógeno importante que se encuentra asociado a enfermedades transmitidas por alimentos tales como los lácteos, carnes y pescado, debido a que puede causar graves daños a la salud de niños, ancianos y mujeres embarazadas (FDA, Bad Bug Book, 2012).

Estudios realizados en otros países han reportado una prevalencia de *L. monocytogenes* en leche sin pasteurizar, hasta un 12% (Schöbitz, et.al., 2001).

En Guatemala, Dubón en el año 2014 reporta una prevalencia de *L. monocytogenes* del 31% en quesos artesanales, que se expenden en mercados municipales de la ciudad de Guatemala. En otro estudio tanto en leche sin pasteurizar como en productos lácteos preparados artesanalmente, se reportan muestras positivas para *Listeria* sp., aunque no fueron confirmadas como *L. monocytogenes* (González A., 2008).

Guatemala como el resto de los países en vías de desarrollo, es un país mayoritariamente rural. En donde la elaboración de los productos lácteos se realiza de forma artesanal, para ello se utiliza, con ese propósito, leche sin pasteurizar. Se considera que el 32.5% de la producción láctea del país es aportada por la cabecera departamental de Jutiapa (Quirós, 2004) y que no se cuenta con información que registre la presencia o ausencia de dicha bacteria en sus productos lácteos. Se elaboró el presente trabajo con la principal finalidad de aportar datos, sobre la prevalencia de *L. monocytogenes* en productos lácteos artesanales que se expenden en diferentes puntos de distribución de dicha ciudad.

Se dejan a disposición los resultados obtenidos para que puedan ser utilizados como punto de partida para futuras investigaciones, en los centros de acopio de leche, y para el planteamiento de posibles soluciones, si se confirma el problema. A fin de promover una oferta constante de leche y productos lácteos de calidad, que satisfaga las demandas del mercado.

VI. OBJETIVOS

A. Objetivo General

Determinar la presencia de *Listeria monocytogenes* en productos lácteos artesanales (queso fresco, crema y requesón) que se expenden en la cabecera departamental de Jutiapa, Guatemala.

B. Objetivos Específicos

1. Determinar *L. monocytogenes* en muestras de productos lácteos artesanales.
2. Establecer la prevalencia de *L. monocytogenes* en las muestras de los productos a analizar.

VII. HIPÓTESIS

Debido a que la investigación a efectuarse es de carácter descriptivo, no es necesario formular hipótesis.

VIII. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Universo y muestra

1. **Universo o población:** centros de acopio que expenden productos lácteos artesanales (queso fresco, crema y requesón) en la cabecera departamental de Jutiapa, Guatemala.
2. **Muestra:** constituida por 75 muestras de cada producto lácteo a evaluarse, dando un total de 225 muestras; las cuales se comprarán en los expendios de mayor distribución en la cabecera departamental de Jutiapa; basándose en los resultados una encuesta realizada a la población, de la localidad.

B. Recursos

1. Recursos humanos

- a. Asesor de Tesis: Licenciado Martín Gil
- b. Seminaristas: Br. Andrea Carolina De León De León, Br. Laura María Campos Samayoa, Br. Diego Antonio Díaz Reyes.

2. Recursos institucionales

- a. Laboratorio Físicoquímico y Microbiológico, LAFYM, del Laboratorio Clínico Popular, LABOCLIP. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala.

C. Material y equipo

1. Equipo

- Cabina de bioseguridad, nivel II
- Autoclave
- Estufa
- Mechero
- Incubadoras a 30⁰C, 35⁰C y 37⁰C
- Balanza con capacidad máxima de 1,200 gramos

- Baño de María
- Pipeta automática de volumen variable de 100-1000 microlitros (μL)
- Refrigeradora
- Termómetros
- Microscopio
- Estereoscopio
- Reloj o cronómetro
- Cámara de Québec

2. Material

- Gradillas de metal
- Espátulas
- Tips o puntas azules para pipeta estériles
- Tips o puntas amarillas para pipeta estériles
- Aceite de inmersión
- Asas bacteriológicas: en argolla y en punta
- Bolsas plásticas estériles de 200 mL de capacidad
- Pichel de plástico o acero inoxidable estéril (de preferencia graduado)
- Cinta testigo
- Marcadores indelebles
- Guantes desechables
- Mascarillas desechables
- Papel kraft
- Masking tape
- Fósforos
- Hielo
- Hielera grande

3. Cristalería

- Cajas de Petri estériles de 15 x 100 mm, plásticas o de vidrio.
- Tubos de ensayo con tapón de rosca
- Erlenmeyer de 500 mL
- Erlenmeyer de 1,000 mL
- Probetas
- Pipetas estériles de 1 mL
- Pipetas estériles de 10 mL
- Pipetas Pasteur estériles
- Láminas portaobjetos

4. Reactivos

- Peróxido de hidrógeno al 3 %
- Reactivos para la determinación de nitritos
- Zinc en polvo
- Manitol
- Xilosa
- Ramnosa
- Etanol al 95 %
- Colorantes para tinción de Gram (cristal violeta, lugol, alcohol-acetona y safranina)

5. Medios de cultivo

- Caldo de Enriquecimiento *Listeria* (*Listeria* EnrichmentBroth –LEB–)
- Agar Tripticasa Soya
- Peptona
- Agar sangre de carnero al 5 %
- Extracto de Levadura
- Agar Oxford base
- Suplementos para agar Oxford

- Caldo base púrpura para fermentación de carbohidratos
- Caldo para reducción de nitratos
- Medio SIM

6. Cepas control

- Cepa ATCC 19115 (American Type Culture Collection) de *L. monocytogenes*
- Cepa ATCC 25923 de *Staphylococcus aureus*
- Cepa ATCC 6939 de *Rhodococcus equi*.

D. Metodología

1. Ubicación de expendios

- a. Se visitó la cabecera departamental de Jutiapa, Guatemala. Se realizó una encuesta para ubicar a expendios de mayor distribución, en la cabecera departamental de Jutiapa, Guatemala (Anexo 7).
- b. Se solicitó la debida autorización a los encargados o dueños de los expendios seleccionados, para llevar a cabo el muestreo de la investigación.

2. Procedimientos

Debido a que la bacteria es altamente patógena, todos los análisis se realizaron bajo las más estrictas normas de bioseguridad, todos los procedimientos se realizarán dentro de una cabina de bioseguridad nivel II y por ningún motivo tuvo acceso a las áreas de trabajo el siguiente grupo de personas: personal inmunocomprometido, ya sea por enfermedad o por el uso de medicamentos, mujeres embarazadas o personas de edad avanzada. Todas las áreas de trabajo fueron desinfectadas adecuadamente antes y después de realizar todos los procesos (Hitchins & Jinneman, 2011).

Se realizó el análisis de las muestras, según la metodología para la determinación de *L. monocytogenes*, estandarizada por González Juárez de Conde en su Informe de Tesis (2008), cuyas bases están descritas en el Manual de Análisis Microbiológico de la FDA – BAM – por sus siglas en inglés (Hitchins & Jinneman, 2011).

a. Características físicas de los productos lácteos

- Se observaron y anotaron las características físicas del queso, crema y requesón, previo a su procesamiento. Estas características incluyeron: pH (clasificar el producto como ácido, neutro o alcalino), consistencia (sólido, semisólido o líquido, en el caso de la crema) y color.

b. Control de calidad de medio de cultivo

- **Control positivo:** Se inoculó una asada de la cepa ATCC 19115 de *L. monocytogenes* en una caja de agar Oxford. Se estirió por agotamiento e incubó a 35⁰C por 24-48 horas. Se realizó por duplicado.
- **Control negativo:** en otra caja con agar Oxford, se estirió por agotamiento un inóculo con la cepa ATCC 25923 de *Staphylococcus aureus*. Se incubó a 35⁰C por 24-48 horas. Se realizó por duplicado.
- **Control de esterilidad:** Se incubó una tercera caja con agar Oxford a 35⁰C por 24-48 horas, sin inocular. Se realizó por duplicado.
- Se observó crecimiento, ausencia y esterilidad en las cajas de control positivo, negativo y de esterilidad, respectivamente.
- Posteriormente se continuó la marcha para el aislamiento e identificación de *Listeria* (Anexo 3) a partir de las colonias negras presentes en las cajas de control positivo.

c. Enriquecimiento

- Se pesaron 25g o se midieron 25mL de alimento con una pipeta y se agregó a un Erlenmeyer con 225mL de Caldo *Listeria* (1:10).
- Se homogenizó hasta obtener una mezcla homogénea.
- Se incubó por 24-48 horas a 30⁰C.

d. Aislamiento

- Se tomó una asada (con asa en argolla) de caldo *Listeria* (LEB) y se inoculó en dos cajas de agar Oxford. Se esparció el inóculo con el asa rayando por agotamiento para aislar las colonias.
- Se incubaron las placas en posición invertida por 24-48 horas a 35⁰C.
- Se buscaron colonias negras o con halo negro en las cajas con agar Oxford y se transfirieron 5 colonias típicas a agar tripticasa soya con 0.6% de extracto de levadura (TSAYE).
- Se estrió para aislar las colonias. Se incubaron por 24-48 horas a 30⁰C.

e. Identificación

A partir de los cultivos TSAYE, se realizaron las siguientes pruebas:

- Gram: en cultivos de 24 horas se buscaron bacilos cortos Gram positivo.
- Catalasa: se buscó producción de burbujas (catalasa positivo).
- Movilidad: se inoculó en medio SIM y se incubó a temperatura ambiente por 7 días.
- Se buscó la presencia de crecimiento en “sombriilla” en tubos de medio MIO, inoculados con las colonias características.
- Beta hemólisis: *L. monocytogenes* y *L. seeligeri* presentan una zona clara; *L. inoocua* no presenta hemólisis y *L. ivanovii* presenta una zona clara bien definida en agar sangre de carnero al 5%.
- Reducción de nitratos: solamente *L. murrayi* da una reacción positiva en caldo nitrado.
- Fermentación de carbohidratos: se inocularon tubos ramnosa, xilosa y manitol. Se incubaron por 7 días a 35⁰C y observar las reacciones (Anexo 2).
- Prueba de Cristie-Atkins-Munch-Peterson (CAMP): en agar sangre de carnero se estrió separada, pero perpendicularmente y en forma vertical una asada de *Staphylococcus aureus* ATCC 49444 ó 25923 y una asada de *Rhodococcus equi* ATCC 6939. Entre las dos líneas se estrió horizontalmente las colonias

sospechosas, sin llegar a tocar las líneas verticales. Se examinó la presencia de hemólisis después de incubar 24-48 horas a 35⁰C (Anexo 2).

- Las colonias negras en agar Oxford se confirman como *L. monocytogenes* si son beta hemolíticas, positivas al CAMP con *S. aureus*, negativas al CAMP con *R. equi*, dan movilidad en forma de sombrilla en medio SIM, dan una reacción positiva con la ramnosa y negativa con manitol y xilosa y son nitratos negativo (Hitchins & Jinneman, 2011).

f. Confirmación

- Para confirmar los resultados encontrados en las pruebas bioquímicas convencionales, se utilizó el sistema de identificación comercial API *Listeria* (bioMérieux, Francia).

g. Comparaciones y factores de riesgo

- A partir de los resultados obtenidos y las observaciones de las características físicas de los productos lácteos, se estableció la comparación entre las características de cada producto y la presencia o ausencia de *L. monocytogenes*.
- Se evaluó si estas características son un factor de riesgo, a partir del análisis de las gráficas y la frecuencia de presencia/ausencia de *L. monocytogenes*.
-

3. Diseño de investigación

- a. Tipo de muestreo:** la muestra se obtuvo de manera no aleatoria, por conveniencia. Se consideró para el estudio un total de 225 muestras, de las cuales 75 fueron de queso fresco, 75 de crema y 75 de requesón, provenientes de los 5 expendios de mayor distribución en la cabecera departamental de Jutiapa, Guatemala. Se realizaron 3 muestreos durante 3 meses en los cuales se tomaron 5 muestras de cada producto (queso fresco, crema y requesón) por expendio, para ser un total de 15 muestras de cada producto lácteo por cada expendio. Cada muestra se trabajó por duplicado para garantizar la calidad en los resultados y aquellas muestras que presentaron

crecimiento del género *Listeria*, se confirmaron con la prueba rápida comercial API *Listeria*.

- b. Unidad de observación:** centros de acopio o expendios de productos lácteos artesanales.
- c. Unidad de análisis:** queso fresco, crema y requesón artesanales (con un peso o volumen mínimos de 100g o 100mL por muestra, respectivamente).
- d. Criterio de inclusión/exclusión:** para la identificación de las colonias, se aislaron únicamente, aquellas que presentaron las características específicas del género *Listeria*:
 - a. Colonias pequeñas, con halo negro en agar Oxford.
 - b. Bacilos cortos en empalizada, Gram positivo.
- e. Tipo de estudio:** Descriptivo. Se realizó el análisis microbiológico (enriquecimiento, aislamiento, identificación y confirmación de *L. monocytogenes*) de las muestras de productos lácteos artesanales. Se observaron las características de las colonias que crecieron en agar Oxford.
- f. Variable de interés:** presencia de *L. monocytogenes* en las muestras de productos lácteos artesanales recolectados.
- g. Interpretación de resultados:** los resultados obtenidos se interpretaron por medio de tablas y gráficas, comparaciones y reporte de la frecuencia presencia/ausencia de *L. monocytogenes*, por procedencia (expendio) y producto (queso fresco, crema, requesón) (Hitchins & Jinneman, 2011).

IX. RESULTADOS

En la cabecera departamental de Jutiapa existen 21 expendios registrados, de los cuales se seleccionaron los 5 más populares por medio de una encuesta realizada a la población (Anexo 7).

Durante el estudio se observó que ninguno de los expendios muestreados produce sus propios lácteos. Además, dichos expendios poseen distintos proveedores para los diferentes productos, con excepción del expendio D que si posee un único proveedor.

Por falta de colaboración de los expendios y proveedores, no se logró determinar el origen de la materia prima (leche) de los derivados lácteos que comercian.

En la Tabla 1 se observan las características físicas, de las muestras de estudio: color (blanco/amarillento), consistencia (sólida, líquida y semisólida) y el pH (ácido/básico). Con respecto del color que predomina en la muestras, 165 eran color blanco (73.3%) siendo el resto de color amarillento, el cual se observó en las muestras de crema. La consistencia es característica de cada producto; el 100.0% de las muestras presentó pH = ácido.

Tabla 1. Frecuencia de características físicas de las muestras.

Características	Muestra			Total
	Queso	Crema	Requesón	
Color				
Blanco	75	15	75	165
Amarillento	0	60	0	60
	Total			225
Consistencia				
Sólida	74	0	0	74
Líquida	0	75	0	75
Semisólida	1	0	75	76
	Total			225

pH				
Ácido	75	75	75	225
Alcalino	0	0	0	0
Neutro	0	0	0	0
	Total			225

Fuente: datos experimentales

En la Tabla 2 se observa el crecimiento de unidades formadoras de colonias (UFC) según la consistencia de la muestra, el 62.0% de las muestras que presentaron crecimiento eran de consistencia sólida, 38.0% en muestras semisólidas, mientras que las muestras de consistencia líquida no presentaron ningún tipo de crecimiento.

Tabla 2. Relación del crecimiento de UFC según la consistencia de la muestra.

Consistencia	Cantidad de muestras con	
	crecimiento	Porcentaje (%)
Sólida	31	62.0
Semisólida	19	38.0
Líquida	0	00.0
Total	50	100.0

Fuente: datos experimentales

En la Tabla 3 se observa la identificación, por medio de prueba API, de las colonias características de *Listeria* spp. El 64.0% de las muestras con crecimiento, se identificó como *L. welshimeri* y el 36.0% como *L. ivanovii*.

Tabla 3. Identificación de colonias presuntivas para *Listeria* spp.

Identificación	Frecuencia	Porcentaje (%)
<i>L. ivanovii</i>	18	36.0
<i>L. welshimeri</i>	32	64.0
Total	50	100.0

Fuente: datos experimentales confirmados por medio de la prueba API

La Tabla 4 presenta la frecuencia de las especies de *Listeria* que fueron identificadas. Se observa que *L. welshimeri* se presentó en un mayor porcentaje en el expendio A (17.7%), y en menor porcentaje para el expendio C (8.8%). Se observa que en los expendios B y E se presentó un mayor porcentaje (11.1%) de *L. ivanovii*, mientras que el porcentaje de esta especie fue menor en el expendio D (6.6%).

Tabla 4. Identificación de especies de *Listeria* por expendio.

Identificación	Expendio									
	A	%	B	%	C	%	D	%	E	%
<i>L. ivanovii</i>	1	02.2	5	11.1	4	08.8	3	06.6	5	11.1
<i>L. welshimeri</i>	8	17.7	7	15.5	4	08.8	6	13.3	7	15.5
Ausencia	36	80.0	33	73.3	37	82.2	36	80.0	33	73.3
Total	45	100.0								

Fuente: datos experimentales

La Tabla 5 presenta la identificación de las colonias, según el tipo de muestra. El queso presentó un mayor porcentaje de *L. welshimeri* (30.6%) que *L. ivanovii* (13.3%) seguido por el requesón 12.0% y 10.6% respectivamente. Caso contrario se observa en la crema, la cual no presentó crecimiento característico para *Listeria* spp.

Tabla 5. Identificación de cepa de *Listeria* por tipo de muestra procesada.

Identificación	Tipo de muestra					
	Queso	%	Crema	%	Requesón	%
<i>L. ivanovii</i>	10	13.3	0	0.0	8	10.6
<i>L. welshimeri</i>	23	30.6	0	0.0	9	12.0
Ausencia	42	56.0	75	100.0	58	77.3
Total	75	100.0	75	100.0	75	100.0

Fuente: datos experimentales

X. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En la actualidad, la Food and Drug Administration (FDA) ha reconocido a *Listeria monocytogenes* como patógena para el ser humano. Afecta principalmente a personas inmunodeprimidas tales como los neonatos, mujeres embarazadas y ancianos. Su transmisión se da tras la ingesta de alimentos contaminados, principalmente vegetales crudos y derivados lácteos no pasteurizados (FDA, Bad Bug Book, 2012).

Debido a que *L. monocytogenes* crece en ambientes salados, húmedos y fríos, los derivados lácteos son medios adecuados para la proliferación de dicha bacteria, aun cuando éstos se guardan en refrigeración (FDA, 2012). Por tal razón, se seleccionó queso fresco, crema y requesón para este estudio; el cual fue realizado en la cabecera departamental de Jutiapa, Guatemala. Dicho lugar comprende el 32.5% de la producción láctea del país, en donde la elaboración de los productos lácteos se realiza de forma artesanal y se comercializa en mercados o expendios, en donde se ha podido constatar que son exhibidos fuera de los refrigeradores, aumentando aún más la curva de crecimiento bacteriano (Quirós, 2004).

Para la determinación de *L. monocytogenes* en los productos lácteos artesanales antes mencionados, se utilizó un método cualitativo, desarrollado por la FDA en su Manual de Análisis Bacteriológico - BAM (por sus siglas en inglés) -, para la detección y enumeración de *Listeria monocytogenes* en alimentos (Hitchins & Jinneman, 2011). A todos los medios de cultivo utilizados, se les realizaron pruebas de control de calidad por duplicado, según el lote de producción (Anexo 8). De igual forma, la identificación fue realizada en todas las muestras cuyos medios presentaron crecimiento similar al característico para *Listeria*.

De las muestras analizadas, no se identificó *L. monocytogenes*, aunque se logró aislar e identificar dos especies distintas: *L. welshimeri* y *L. ivanovii*. De las especies identificadas, únicamente *L. ivanovii* es considerada patógena en rumiantes (Murray, Rosenthal, & Pfäuer, 2007). Sin embargo, según estudios realizados en Colombia, la presencia de *L. ivanovii*, en productos lácteos es considerada patógena en algunos casos de infecciones

oportunistas en humanos (Gallegos, y otros, 2007). Debido a que esta bacteria fue aislada en los productos lácteos muestreados, se puede inferir que el ganado proveedor de la leche para la realización de los mismos, está infectado con dicha bacteria y es potencial transmisor de enfermedades distintas a listeriosis.

Los diferentes factores ambientales, tales como temperatura, pH y concentración de sal, constituyen condiciones límite para el crecimiento de *L. monocytogenes*. Por lo tanto, si alguno de estos factores se encuentra en valores límite a los óptimos, el crecimiento de la bacteria se verá afectado. En caso de que uno o diversos factores se encuentren en condiciones subóptimas del crecimiento, como generalmente sucede en los alimentos, el intervalo de condiciones que permitiría el crecimiento de *L. monocytogenes*, disminuye (Hernández, Alfaro, & Arrieta, 2000).

La ausencia de *L. monocytogenes* en este estudio podría deberse a uno o varios factores. Según González, la microbiota habitual de la leche cruda puede inhibir y eliminar la presencia de ciertas cepas de *L. monocytogenes*, ya sea por inhibición competitiva de nutrientes o por la producción de proteínas con acción bactericida (bacteriocinas). También refiere que algunas bacterias ácido lácticas (BAL) compiten a través de la producción de ácidos orgánicos y bacteriocinas. Estas bacterias disminuyen el pH del medio a niveles que son desfavorables para ciertas cepas de *L. monocytogenes* y otros patógenos (González, 2008). Además, es bien reconocido que la leche cruda de donde provienen los productos lácteos analizados en este estudio, posee varias sustancias naturales antimicrobianas, que ayudan a eliminar la microbiota que pueda estar presente, incluyendo los patógenos. Entre estas se mencionan, la lactoferrina, algunas inmunoglobulinas y el sistema lactoperoxidasa-tiocianato-peróxido de hidrógeno (Jawetz, y otros, 1992). De igual forma, todos los derivados lácteos de la leche cruda, se ven afectados por las mismas propiedades bactericidas e inhibitorias, pudiendo explicar la ausencia de *L. monocytogenes* en los productos lácteos artesanales evaluados en este estudio.

Se ha señalado que puede existir una variación estacional en la incidencia de *L. monocytogenes*, ya que se ha detectado una menor positividad en la época seca, que también afectaría a las otras especies de *Listeria*. En esta investigación, todas las muestras se tomaron durante la época seca, lo cual podría justificar por qué no se encontraron tantas muestras positivas para *Listeria* spp. (González A. , 2008).

Es importante mencionar que a pesar de que las especies de *Listeria* encontradas en esta investigación no son patógenas para el hombre, su presencia indica una inadecuada manipulación de la leche y condiciones higiénicas deficientes en los expendios y/o proveedores. Es por esta razón que el Codex Alimentarius mencionó, que los programas de vigilancia eficaces pueden incluir pruebas para la detección de organismos de *Listeria* spp., ya que su presencia es un buen indicador de condiciones que favorecen la posible presencia de *L. monocytogenes* (Comisión del Codex Alimentarius, 2005). Finalmente, a pesar de que en este estudio no se obtuvieron aislamientos de *L. monocytogenes*, no se puede descartar su presencia, ya que se trata de una bacteria ubicua y existe la posibilidad de encontrarla en algunos de los sitios de muestreo evaluados. Es importante recordar, que la contaminación por dicho patógeno puede ocurrir ante cualquier exposición al medio ambiente, por lo que se recomienda la aplicación de las normas de higiene correspondientes, no sólo para los productores y distribuidores, sino también para cada uno de los consumidores. Para Guatemala, el nivel de tolerancia para los productos que requieren la determinación de *L. monocytogenes* es cero. Por lo tanto, la ausencia de este patógeno en los productos lácteos artesanales (queso fresco, leche y requesón) que se expenden en la cabecera departamental de Jutiapa, Guatemala, cumplen con la norma legal en cuanto a la tolerancia cero y por el momento, no se considera un vehículo de transmisión de *L. monocytogenes*.

En la última década se han realizado estudios que demuestran que *L. monocytogenes* es un patógeno, que se puede clasificar como emergente. La presencia de estos patógenos representan una importante amenaza para los negocios de la industria de alimentos, especialmente en la industria artesanal, pues estudios realizados por la OMS, han confirmado que la aparición de las ETA's ocurren por diversos motivos: introducción de

patógenos debido a la distribución de alimentos en distintas áreas geográficas, la capacidad de los microorganismos para sobrevivir a condiciones ambientales adversas, generación de nuevas cepas virulentas, entre otros (Diez, 2012).

En este estudio no se realizaron las pruebas necesarias con indicadores de contaminación (coliformes totales, coliformes fecales principalmente *Entamoeba coli*), debido a la falta de recursos económicos. Por dicha razón, la metodología efectuada, fue directamente para la identificación de *Listeria* spp., específicamente para *L. monocytogenes*.

Por estos motivos, se recomienda la realización de estudios adicionales, donde se determine la presencia de indicadores de contaminación fecal; así mismo de patógenos tradicionales, que incluyen principalmente *Salmonella*, *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* y *Shigella*; y otros patógenos emergentes como *E. coli* O157 enterohemorrágica, Norovirus, *Campylobacter* y más recientemente otras *E. coli* enterohemorrágicas productoras de toxina Shiga, para garantizar la inocuidad de estos productos, ya que la metodología empleada para alcanzar los objetivos en este estudio no es aplicable a dichos microorganismos y es específica únicamente para el género *Listeria*.

XI. CONCLUSIONES

1. Se determinó la ausencia de *Listeria monocytogenes* en los productos lácteos artesanales (queso fresco, crema y requesón) muestreados en la cabecera departamental de Jutiapa, Guatemala.
2. Se aisló *Listeria* spp. en el 22.2% del total de las muestras, del cual, el 36.0% corresponde a *L. ivanovii* y el 64.0% a *L. welshimeri*.
3. La prevalencia de *L. monocytogenes* no se determinó en los productos lácteos artesanales (queso fresco, crema y requesón) que se expenden en la cabecera departamental de Jutiapa Guatemala, ya que no hubo presencia de la misma en las muestras evaluadas.
4. El hallazgo de dos especies distintas a *L. monocytogenes*, representa un riesgo potencial de contaminación en la leche y sus derivados, por lo tanto, no se garantiza la inocuidad de los productos lácteos artesanales (queso fresco, crema y requesón) que se expenden en la cabecera departamental de Jutiapa, Guatemala.

XII. RECOMENDACIONES

1. Continuar con estudios similares en otras regiones de Guatemala, con el fin de determinar la prevalencia de *L. monocytogenes* a nivel nacional.
2. Las autoridades locales deben de realizar evaluaciones microbiológicas frecuentes en la leche cruda y sus derivados, con el propósito de establecer la inocuidad en dichos productos.
3. Como medida de control para prevenir el riesgo de contaminación por *L. monocytogenes* en las lecherías, las autoridades correspondientes deben de implementar capacitaciones dirigidas al personal involucrado en la producción de leche y sus derivados.
4. Establecer un procedimiento estandarizado para los productos lácteos artesanales, en donde exista una trazabilidad que permita dar seguimiento al proceso de manufactura y poder así, determinar las fuentes de contaminación microbiológica en casos de intoxicación alimenticia.

XIII. REFERENCIAS

- Abehsera, M., Eguiluz, I., Barber, M., & Baena, C. (2007). *Listeriosis: enfermedad en círculos*. (C. o. University, Ed.) Obtenido de <http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/listeriosis.pdf>
- Aranceta, J., & Serra, L. (2005). *Leche, Lácteos y Salud*. España: Médica Panamericana.
- Buchanan, R., Stahl, H., & Whiting, R. (1989). Effects and interactions of temperature, pH, atmosphere, sodium chloride and sodium nitrite on the growth of *Listeria monocytogenes*. *J. Food Prot*, 52(12), 844 - 851.
- Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades. (12 de 07 de 2012). *Listeria (Listeriosis)*. Obtenido de <http://www.cdc.gov/spanish/listeria/prevention.html>
- Chenal Pérez, Z. A. (1997). *Determinación de la presencia de Listeria monocytogenes en camarones comercializados en la ciudad de Guatemala*. Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala: Editorial Universitaria.
- Comisión del Codex Alimentarius. (2005). *Informe de la 37va. reunión del comité del Codees sobre higiene de los alimentos*. Programa conjunto FAO/OMS sobre normas alimentarias. Buenos Aires: ALINORM 05/08/13.
- De León, L., Tartanac, F., & Sanchez, C. (s.f.). *Adaptación y Transferencia de Tecnología para mejorar la calidad sanitaria del queso artesanal en Guatemala*. Obtenido de www.condesan.org/e-foros/agroindustria_rural/air2florence.htm
- Diez, F. (2012). *Patógenos emergentes: Énfasis en Alimentación*. Universidad de Minnesota, Departamento de Nutrición y Ciencias de los Alimentos, EEUU. .
- Dubón Pérez, J. C. (2014). *Determinación de la presencia de Listeria monocytogenes en quesos frescos artesanales que se expenden en mercados municipales de la Ciudad de Guatemala*. Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- Espinoza, A., De La Torre, M., Salinas, M., & Sánchez, V. (2004). *Rev peru med exp salud publica*, 21(2), 71-75. Recuperado el 10 de Junio de 2013, de http://www.sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/Medicina_Experimental
- Food and Drug Administration - FDA-. (2012). *Bad Bug Book, Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins* (Second Edition ed.).

- Gallegos, J., Arrieta, G., Mattar, S., Poutou, R., Trespalacios, A., & Carrascal, A. (12 de noviembre de 2007). *Revista científica de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia*, 12(2), 996 - 1012.
- Gálvez, M., & Mauricio, E. (1997). *Determinación de la contaminación por Listeria monocytogenes en quesos de producción comercial en Guatemala usando el método USDA*. Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala: Editorial Universitaria.
- 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*. Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala: Editorial Universitaria.
- Hernández, A., Alfaro, I., & Arrieta, R. (2000). *Microbiología Industrial*. Costa Rica: EUNED.
- Hitchins, A., & Jinneman, K. (2011). Detection and Enumeration of *Listeria monocytogenes* in Foods. En *Bacteriological Analytical Manual*. United States: Food and Drug Administration.
- Jawetz, E., Melnick, J., Adelberg, E., Brooks, G., Butel, J., & Ornston, N. (1992). *Microbiología Médica* (14ta. ed.). México: El Manual Moderno, S.A. de C.V.
- Koneman, E., Allen, S., Janda, W., Schreckenberger, P., & Winn, W. (2004). *Diagnóstico Microbiológico, texto y atlas color* (5ta. ed.). Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana, S.A.
- Madigan, M., Martinko, J., & Parker, J. (2004). *Brock, Biología de los Microorganismos* (10ma. ed.). Madrid, España: Pearson Educacion, S.A.
- Michanie, S. (May-Jun de 2004). *Listeria monocytogenes: la bacteria emergente de los 80*. *Ganados y Carnes*, 4(18), 34-37.
- Ministerio de Salud Pública, Gobierno de Chile. (2009). *Procedimiento para la identificación bioquímica de cepas de Listeria monocytogenes aisladas en alimentos y ambiente*. (I. d. Pública, Ed.) Obtenido de http://www.ispch.cl/lab_amb/met_analitico/2_6_09/microbiologia/PRT-086.pdf

- Murray, P., Rosenthal, K., & Pfäuer, M. (2007). *Microbiología Médica* (5ta. ed.). Madrid, España: Elsevier, S.A.
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). (2011). *Manual 2: Buenas prácticas de manufactura en la elaboración de productos lácteos*. Guatemala.
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). (2011). *Manual 3: Procesos para la elaboración de productos lácteos*. Guatemala.
- Panisello Royo, J. M. (2007). *Las 100 preguntas que siempre quiso hacer: mitos y verdades en torno a la alimentación* (Vol. II). Barcelona, España: Editorial Glosa S.L.
- Pardo, M., & Almanza, F. (2005). *Guía de procesos para la elaboración de productos lácteos*. Bogotá, Colombia: Convenio Andrés Bello.
- Quirós, E. (2004). Análisis del Sector Lácteo Centroamericano: primera parte. Cámara de Productores de Leche de Guatemala. Guatemala. *NotiLeche*. 16, 2-28.
- Rosas, B., Morales, A., Alaniz, R., Ramirez, A., Ramos, J., Mora, R., . . . Jacquet, C. (29 de junio de 2014). Presencia y persistencia de *Listeria* en cuatro queserías artesanales de Jalisco, Mexico. *E- CUCBA*, 2, 3 - 37.
- Schöbitz, R., Marín, M., Horzella, M., & Carrasco, E. (Julio de 2001). Presencia de *Listeria monocytogenes* en leche cruda y quesos frescos artesanales. *Agro sur*, 29(2), 23-25.
- Vásquez, C., De Cos, A., & López-Nomdedeu, C. (2005). *Alimentación y Nutrición: Manual teórico-práctico* (2da. ed.). España: Ediciones Díaz de Santos.

XIV. ANEXOS

Anexo 1. Reacciones específicas para la identificación del género *Listeria*.

PRUEBAS	RESULTADOS
Tinción de Gram ^a	Bacilos cortos gram positivo
Catalasa	+
Oxidasa	-
Producción de ácido a partir de glucosa	+
Hidrólisis de esculina	+
Hidrólisis de urea	-
Hidrólisis de gelatina	-
Voges-Proskauer	+
Rojo de metilo	+
Indol	-
Movilidad en forma de sombrilla*	+

^a Cultivos de 16 – 24 horas

* Incubación a temperatura ambiente por 7 días en medio SIM

Anexo 2. Reacciones específicas para la identificación de las especies del género *Listeria*.

REACCIONES/ESPECIES	Gram	Catalasa	Hidrólisis de Esculina	Movilidad en sombrilla*	Indol	B-hemólisis	Nitratos	Xilosa	Ramnosa	Manitol	<i>S. aureus</i>	<i>R. equi</i>
	<i>L. monocytogenes</i>	+	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+
<i>L. ivanovii</i>	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	+
<i>L. innocua</i>	+	+	+	+	-	-	-	-	V	-	-	-
<i>L. welshimeri</i>	+	+	+	+	-	-	-	+	V	-	-	-
<i>L. seeligeri</i>	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	-
<i>L. grayi</i>	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-
<i>L. murrayi</i>	+	+	+	+	-	-	+	-	V	+	-	-

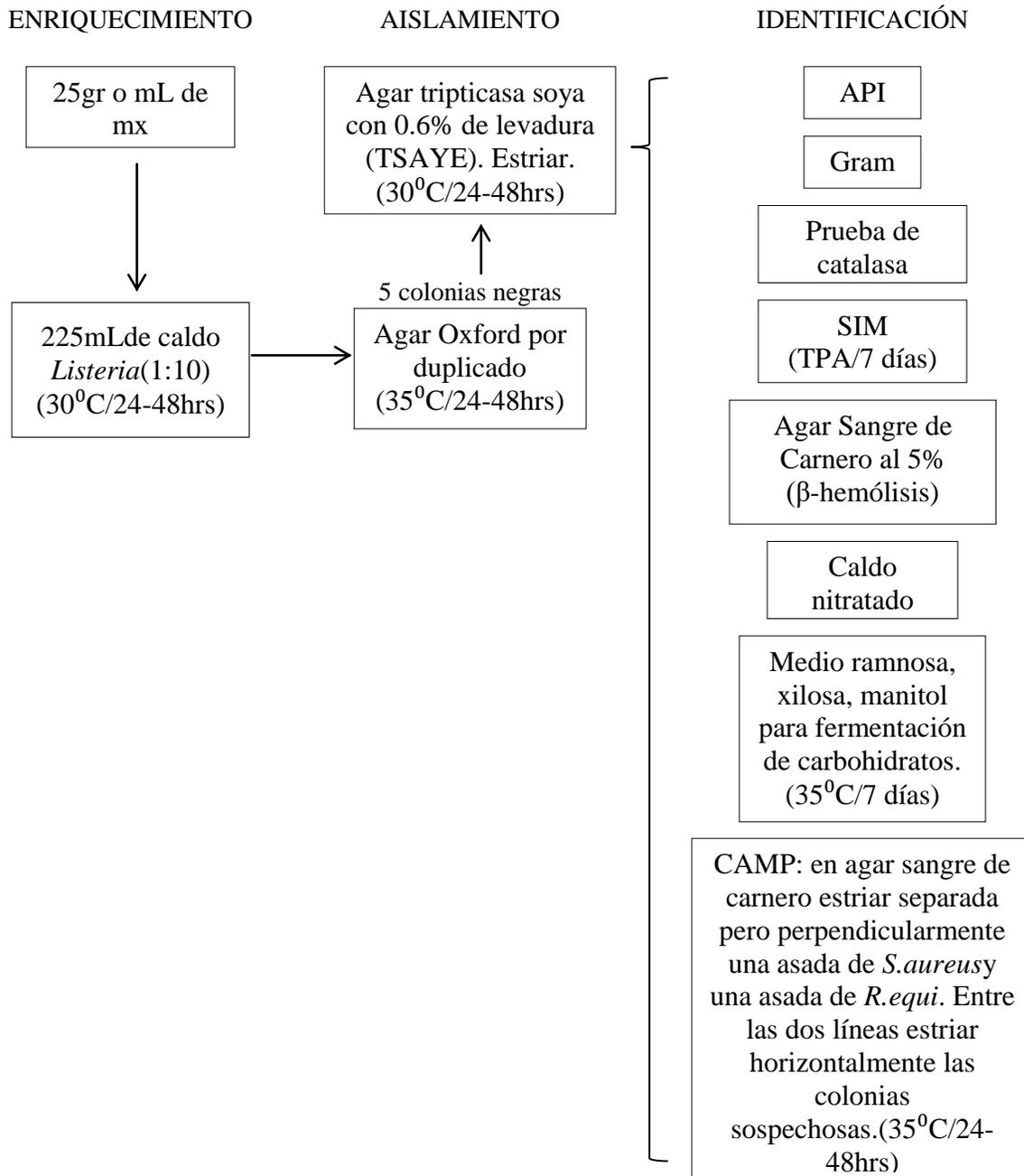
+ = Positivo en 48 horas

- = Negativo en 48 horas

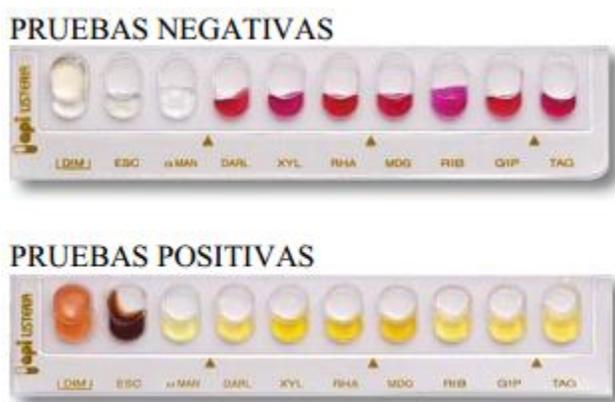
v = Reacción variable

*Incubación a temperatura ambiente por 7 días en medio SIM

Anexo 3. Marcha para enriquecer, aislar e identificar el género *Listeria*.



Anexo 4. Pruebas comerciales para identificación, API *Listeria*.



Anexo 5. Tabla de resultados en el sistema API *Listeria*.

TEST	COMPONENTES ACTIVOS	REACCIONES	RESULTADOS	
			NEGATIVO	POSITIVO
<u>DIM</u>	Subtrato enzimático	Diferenciación <i>L. innocua</i> / <i>L. monocytogenes</i>	ZYM B / < 3 min Naranja pálido Rosa beige Gris beige	
ESC	Esculina citrato férrico	Hidrólisis (ESCulina)	Amarillo pálido	Negro
α MAN	4-nitrofenil- α D- manopiranosida	A-MANosidasa	Incoloro	Amarillo
DARL	D-Arabinol	Acidificación (D-Arabinol)		
XYL	D-Xilosa	Acidificación (Xilosa)		
RHA	L-Rhamnosa	Acidificación (RHAmnosa)	Rojo / rojo anaranjado	Amarillo / amarillo anaranjado
MDG	Metil- α D- glucopiranosido	Acidificación (Metil- α D- glucopiranosido)		
RIB	D-Ribosa	Acidificación (RIBosa)		
G1P	Glucosa-1-Fosfato	Acidificación (Glucosa-1- Fosfato)		
TAG	D-Tagatosa	Acidificación (TAGatosa)		

Anexo 6: Tabla de identificación en API para los géneros *Listeria*.

CEPA	<u>DIM</u>	ESC	α MAN	DARL	XYL	RHA	MDG	RIB	G1P	TAG
<i>L. innocua</i>	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-
<i>L. ivanovii</i>	+	+	-	+	+	-	V	-	+*	-
<i>L. monocytogenes</i>	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-

*Ocasionalmente (-)

Anexo 7. Encuesta de sondeo a pobladores de la cabecera departamental de Jutiapa, Guatemala.

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA
ESCUELA DE QUÍMICA BIOLÓGICA



ENCUESTA

Nombre: _____

Cédula o DPI: _____ **Teléfono:** _____

1. Marque con una X los 3 productos lácteos que más se consumen en su hogar:

- | | | | |
|-----------------|--------------------------|----------------|--------------------------|
| a. Queso fresco | <input type="checkbox"/> | g. Leche | <input type="checkbox"/> |
| b. Crema | <input type="checkbox"/> | h. Queso crema | <input type="checkbox"/> |
| c. Requesón | <input type="checkbox"/> | i. Mantequilla | <input type="checkbox"/> |
| d. Queso seco | <input type="checkbox"/> | j. Quesillo | <input type="checkbox"/> |
| e. Yogurt | <input type="checkbox"/> | k. Otro: _____ | |
| f. Helado | <input type="checkbox"/> | _____ | |

2. ¿En dónde compra usted sus productos lácteos?

- | | |
|------------------|--------------------------|
| a. Súper mercado | <input type="checkbox"/> |
| b. Mercado | <input type="checkbox"/> |
| c. Local: | _____ |
| d. Finca: | _____ |
| e. Otro: | _____ |

Anexo 8. Control de medios de cultivo

Medio de cultivo	Caldo Listeria			Agar Oxford		
Características	Contiene sales de fosfato, forman un sistema buffer que evitan cambios bruscos de pH y así se favorece el desarrollo de <i>Listeria</i> spp.. El piruvato de sodio permite recuperar células dañadas presentes en la muestra.			Es diferencial para el desarrollo de <i>Listeria</i> spp., debido a que el producto de hidrólisis de la esculina en presencia de iones Fe^{3+} forma un compuesto fenólico de color negro.		
Controles	Muestreo 1	Muestreo 2	Muestreo 3	Muestreo 1	Muestreo 2	Muestreo 3
Control de esterilidad: ningún crecimiento.	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C
Control Positivo: crecimiento de cepa ATCC <i>Listeria monocytogenes</i>	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C
Control negativo: Inhibición de crecimiento cepa ATCC <i>S. aureus</i>	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C
C = conformidad NC = no conformidad						

Fuente: datos experimentales

Laura María Campos Samayoa

Autor

Andrea Carolina De León De León

Autor

Diego Antonio Díaz Reyes

Autor

Lic. Martín Gil

Asesor

Dra. Karin Herrera

Revisora

MSc. Alba Marina Valdés de García

Directora

Dr. Rubén Dariel Velásquez Miranda

Decano